ZUM EINFLUSS FRÜHJUGENDLICHER GERUCHSBELASTUNGEN AUF DIE NEURONALEN REIZANTWORTEN DES BULBUS OLFACTORIUS BEI LABORMÄUSEN

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Hohen Mathem.-Naturw. Fakultät
der
Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität
zu
BONN

vorgelegt von
MARTIN ECKERT
aus
GOTTWOLLSHAUSEN

BONN 1985

ZUM EINFLUSS FRÜHJUGENDLICHER GERUCHSBELASTUNGEN AUF DIE NEURONALEN REIZANTWORTEN DES BULBUS OLFACTORIUS BEI LABORMÄUSEN

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Hohen Mathem.-Naturw. Fakultät
der
Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität
zu
BONN

vorgelegt von

MARTIN ECKERT

aus

GOTTWOLLSHAUSEN

BONN 1985

Angefertigt mit Genehmigung der
Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Universität Bonn.

Referent : Professor Dr. U. Schmidt
Korreferent : Professor Dr. H. Schneider

Tag der mündlichen Prüfung : 12. 06. 1985

Druck: Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn

In stürmischen Zeiten...

Für meine Kinder
und Dagmar

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546505_0005

Inhaltsverzeichnis

		Seite
1.	Einleitung	7
2.	Material und Methoden	10
2.1.	Aufzucht der Versuchstiere	10
2.2.	Auswahl der Versuchstiere	13
2.3.	Mess- und Analysegeräte	16
2.4.	Duftstoffe; Reizapplikation	17
2.5.	Versuchsablauf	20
3.	Datenverarbeitung und Statistik	22
3.1.	Datenakquisition	22
3.2.	Datenreduktion	23
3.3.	Statistische Methoden	25
4.	Ergebnisse	30
4.1.	Experiment 1	30
4.1.1.	Entwicklung der neuronalen Aktivität	30
4.1.2.	Entwicklung des Frequenzspektrums	32
4.1.3.	Neuronale Antworten auf olfaktorische Stimuli	36
4.1.4.	Reizabhängige Änderungen des Gesamtspektrums	45
4.1.5.	Reizantworten gemessen am höherfrequenten Spektrum	52
4.1.6.	Statistische Ergebnisse	59
4.2.	Experiment 2	64
4.2.1.	Beschreibung des 2. Experiments	64
4.2.2.	Aktivitäts- und Frequenzentwicklung	66
4.2.3.	Olfaktorische Reizantworten	67
4.2.4.	Vergleichende Betrachtung beider Experimente	73

5.	Diskussion	77
5.1.	Analysemethoden olfaktorischer Reizantworten	77
5.2.	Ontogenese der neuronalen Spontanaktivität	79
5.3.	Neuronale Reizantworten nach Geruchsbelastung	83
5.4.	Abschließende Betrachtung	87
6.	Zusammenfassung	89
7.	Danksagung	91
8.	Literatur	92
9.	Tabellenanhang	102

1. Einleitung

Die ontogenetische Entwicklung der Sinnesorgane ist bei neugeborenen Mäusen noch nicht abgeschlossen. Augen- und Ohrenöffnungen sind verschlossen, und auch die neuronalen Strukturen erreichen erst im Verlauf der ersten 2 Lebenswochen ihre Funktionsfähigkeit (Gottlieb, 1971). Dem Geruchssinn kommt dagegen bereits ab dem ersten Lebenstag eine hohe Bedeutung bei der Orientierung der Jungtiere in ihrer Umwelt zu. Die Nahrungsaufnahme wird durch spezielle, von Zitzendrüsen sezernierte Pheromone gesteuert (Schaffer, 1940), und der Zusammenhalt der Geschwistertiere (huddling) wesentlich durch Geruchseindrücke gewährleistet (Alberts, 1976). Als Nesthocker verlassen die Jungtiere etwa nach 7-8 Tagen erstmals selbständig das Nest und finden durch spezifische, der Mutter anhaftende Duftstoffe, die ein Annäherungsverhalten auslösen (Leon und Moltz, 1971) noch mit verschlossenen Augen wieder zurück.

Verhaltensphysiologische Tests konnten zeigen, daß junge Mäuse bereits ab dem 4. Lebenstag das eigene Nestmaterial signifikant gegenüber duftfreiem Material bevorzugen (Schmidt et al., 1983). Jedoch ist zu berücksichtigen, daß vor allem das Vomeronasalorgan (VNO) und der Bulbus olfactorius accessorius zum Zeitpunkt der Geburt einen hohen Differenzierungsgrad erreicht haben (Hinds und Hinds, 1976) und möglicherweise frühzeitiger als das olfaktorische Hauptsystem zur geruchlichen Orientierung eingesetzt werden kann. Meisel et al. (1982) diskutieren in diesem Zusammenhang, daß das VNO bis zum 10. Lebenstag (bei Ratten) hauptsächlich zum Erkennen von Pheromonen eingesetzt wird.

Die zentralen Strukturen des olfaktorischen Hauptsystems und der Riechbahn sind bei Geburt morphologisch noch nicht

voll ausgebildet. Während die Rezeptor- und Mitralzellen frühembryonal angelegt werden (Newman-Gage et. al. 1980; Schwob, 1984), folgen die präsumptiven Büschelzellen und Körnerzellen (Interneurone) erst in einem größeren zeitlichen Abstand (Hinds, 1968; 1973; Monti-Graziadei et al., 1980). Bei Geburt sind erst etwa 10% der adult vorhandenen Glomeruli olfactorii ausgebildet und die Synaptogenese ist nur wenig fortgeschritten (Astic und Saucier, 1982 a). Die anschließende Differenzierung des olfaktorischen Hauptsystems mit einer zunehmenden Verknüpfung der neuronalen Einzelkomponenten unterliegt einer Vielzahl endogener und exogener Faktoren, wobei die olfaktorischen Eindrücke der Umgebung die neuronale Wachstumsrate, die Ausbildung der synaptischen Kontakte und die funktionale Reifung erheblich beeinflussen können (übersicht bei: Alberts, 1982).

Experimente, in denen Jungtiere von Geburt an einem synthetischen Duftstoff ausgesetzt waren zeigen, daß die Tiere diese Duftsubstanz später präferent beantworten (Cornwell, 1975), oder daß erhöhte neuronale Reizantworten auf diesen Duftstoff zu messen waren (Eckert und Schmidt in Vorb.). Ob diese Präferenz bis ins Adultstadium bestehen bleibt, hängt zum einen davon ab, zu welchem Zeitpunkt der Entwicklung die Exposition vorgenommen wurde (Cornwell, 1976), zum anderen welche assoziativen Erfahrungen die Jungtiere (z.B. Mutterkontakt) während der Expositionszeit machten (Galef und Kaner, 1980).

Die postnatale Entwicklung des Bulbus olfactorius wurde mit elektrophysiologischen Methoden bisher kaum untersucht (Salas et al., 1969; 1970; Iwahara, 1972; Schmidt et al., 1983), und der Einfluß fortgesetzter Duftexpositionen auf das neuronale Antwortverhalten ist, trotz vielfältiger verhaltensphysiologischer Ansätze, in der Literatur bisher nicht beschrieben.

Die vorliegenden Untersuchungen greifen diese Problemstellung auf und beschreiben den Einfluß frühjugendlicher Geruchsbelastungen auf die neuronale Aktivität und Reizantworten des Bulbus olfactorius bei Labormäusen.

2. Material und Methoden

2.1 Aufzucht der Versuchstiere

In der Zeit von Mai 1983 bis Juni 1984 wurden im Zoologischen und Vergleichend Anatomischen Institut der Universität Bonn insgesamt 28 Würfe weißer Labormäuse (ca. 220 Jungtiere; Stamm NMRI) unter experimentellen Bedingungen aufgezogen.

Zwei Anlagen zur experimentellen Aufzucht der Versuchstiere ("Bedampfungsanlagen") waren in verschiedenen Räumen des Institutes untergebracht und hatten jeweils eine Kapazität von 4 Käfigen, die gleichzeitig bedampft werden konnten. In jedem der Tierkäfige (Macrolon® ;40 x 25 x 15 cm) befand sich 5 cm über dem Käfigboden, auf Glasständern aufliegend, ein Zwischenboden aus eng gelochtem Kunststoff (Trovidur®). Auf dem Boden der Käfige und auf den Zwischenböden waren mehrere Lagen weißes, saugfähiges Vliespapier zur Aufnahme der Ausscheidungen und zum Nestbau ausgebreitet. Die Käfige waren mit Gittern aus Niro-Stahl verschlossen und mit transparenten PVC-Hauben abgedeckt. In beiden Anlagen saugte je eine Membranpumpe (Airflow Capex MK II) Außenluft an, die auf Raumtemperatur gebracht und durch Filter mit Aktiv-Kohle geleitet wurde. Anschließend wurde die Luft in Waschflaschen mit Aqua dest. rückgefeuchtet und in Glasröhren (6 mm ∅) unter die Zwischenböden der Käfige als Atemluft für die Versuchstiere geführt. Bei 200 ml/min Luftzufuhr pro Käfig erfolgte so ein Austausch des gesamten Käfigvolumens (15 l) innerhalb von ca. 2 Stunden.

Da die ersten Würfe bei Mäusen oft nur wenige Jungtiere umfassen (Hagemann, 1960), wurde bei der Auswahl der trächtigen Tiere darauf geachtet, daß es keine Erstlingsweibchen waren. Sie wurden ca. 10 Tage nach der Kopulation in Ein-

zelkäfige umgesetzt und spätestens 1-3 Tage prae partum in die Käfige der Bedampfungsanlage 1 überführt. Die Tiere erhielten ab diesem Zeitpunkt nur noch Körnerfutter, da das konventionelle Pressfutter einen zu starken Eigengeruch (Fischmehl) hat. Wasser stand unbegrenzt zur Verfügung. Die Käfige wurden täglich gereinigt, das Einlegepapier gewechselt und alle zwei Tage mit heißem, klarem Wasser gründlich ausgewaschen. Auf diese Weise sollte eine weitgehend einheitliche, duftarme Umgebung für die Jungtiere erzielt werden.

Bereits vor dem Geburtstermin wurden die zu erwartenden Versuchstiere in 2 Reihen aufgeteilt. Mit der Absicht, eine Reihe von Jungtieren während der frühen Entwicklungsphase einer durch einen synthetischen Duftstoff belasteten Umgebung auszusetzen, war in den Käfigen der Reihe E1 (Experiment 1) zusätzlich je eine Petrischale (9 cm ø) mit reinem Geraniol ($C_{10}H_{18}O$) unter dem Zwischenboden aufgestellt. Diese vollsynthetische, monomolekulare Duftsubstanz hat sich in mehreren Versuchen (Schmidt,C., 1982; Schmidt et. al., 1983; Eckert, 1983) durch seinen hohen Reinheitsgrad, seine Atoxizität und gute Löslichkeit in Paraffin bewährt. Sie fand auch Verwendung, um eine Vergleichbarkeit mit vorausgegangenen Ergebnissen zu erreichen. Täglich wurden 2 ml der reinen Substanz (98% ig) auf Filtrierpapier in den Verdunsterschalen ausgebracht.

Dieser Duftstoff ist in normalem Nistmaterial nicht vorhanden und kann damit als "fremder" Duft für die Reihe der Kontrolltiere (Reihe K) gelten, bei denen jeder Kontakt mit dem Duft dieser Substanz vermieden wurde.

Alle Versuchstiere wurden in der Bedampfungsanlage 1 geboren. Um eine ausgewogene Entwicklung zu gewährleisten, wurden am 2. oder 3. Tag post partum (Geburtstag = Tag 0) die Würfe auf 8 Junge reduziert, wobei immer mindestens 4 männliche Jungtiere pro Wurf verblieben. Am 13. Lebenstag

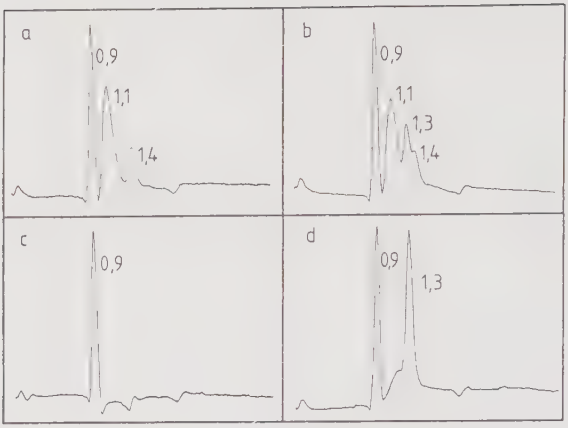


Abb. 2.1: Gaschromatogramme der Käfigluft (Tag 12)
a) Kontrolltiere (Reihe K)
b) Geraniol bedampfte Tiere (Reihe E1)
zum Vergleich :
c) reine Luft; d) reiner Geranioldampf
Gerät : Carlo Erba Serie 4100 mit FID; Integrator
Säule : Porapak 23 B 12, 200 cm
Fluß : 1,9 ml/min ; Träger : N_2
Menge : 0,5 ml
Temp. : 250 ° C; isotherm
Retentionszeiten in Minuten (gerundet)

wurden alle Versuchstiere in die Bedampfungsanlage 2 umgesetzt. Weder die Tierkäfige, noch die übrige Ausstattung hatten hier Kontakt mit dem Duft von Geraniol gehabt. Ab diesem Zeitpunkt mußte wieder 2-3 g/Tag Pressfutter zugefüttert werden, da die Jungtiere in Vorversuchen Mangel-

erscheinungen bei reiner Körnerkost gezeigt hatten.

Die olfaktorische Umgebung der beiden Versuchstier-Reihen unterschied sich damit in den ersten 13 Entwicklungstagen nur durch den zusätzlichen artifiziellen Duft von Geraniol im normalen Nest-Duft (Abb. 2.1).

Während der gesamten Jugendentwicklung zeigten sich keine Unterschiede zwischen den Tieren der Reihe E1 und den Kontrollen. Der Zeitpunkt des Haardurchbruchs (4. Tag), das öffnen der Augen (14. Tag) und die Phase erhöhter Motilität (20.-24. Tag) war bei beiden Reihen gleich. Auch im Vergleich zu normal gehaltenen Jungtieren waren keine auffälligen Veränderunge zu bemerken. Am Tag 35 wurde, um Sexualverhalten und Rivalität zwischen den subadulten Geschwistertieren zu vermeiden (gesteigerte Pheromonproduktion), das Muttertier und alle verbliebenen Jungtiere bis auf zwei Männchen entfernt. Diese wurden bis Tag 70 unter den beschriebenen Bedingungen weiter gehalten.

2.2. Auswahl der Versuchstiere; Operation

Da die olfaktorische Sensitivität endogenen hormonellen Einflüssen unterliegt (Köster, 1965) und mit dem Sexualcyclus korreliert ist (Schmidt,C. und Schmidt, 1980), wurden in die Untersuchungen nur ♂♂ Tiere einbezogen. Aus beiden Tierreihen (E1 und K) wurden je 6 Versuchstiere der Altersstadien 14(+1), 19(+1), 26(+1), 35(+1) und 70(+1) Tage in den Versuch aufgenommem. Um eine weitgehende Homogenität der Stichproben zu erlangen, wurden nur Tiere verwendet, die, als Anhaltspunkt für ihren Entwicklungsstand, ein bestimmtes ihrem jeweiligen Alter entsprechendes Gewicht hatten. Die Bezugswerte wurden für jede Reihe getrennt als gleitender Mittelwert kalkuliert. Für die ersten Tiere des Versuchs waren in 2 Testdurchgängen (4-6 Tiere je Altersstadium) die Ausgangswerte ermittelt worden (Abb. 2.2). Mit

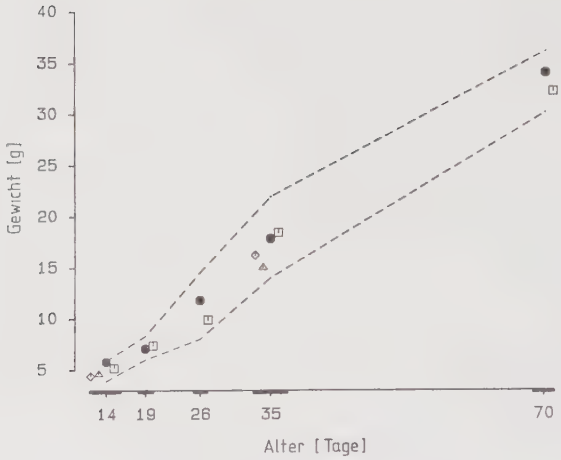


Abb. 2.2: Gewicht der Versuchstiere (Mediane)

● = Kontrollen ◇ = Reihe E2a

□ = Reihe E1 △ = Reihe E2b

gestrichelt: Bereich der Extremwerte

dieser Methode konnte, trotz einer weitgehenden Standardisierung, ein eventueller Einfluß der experimentellen Haltungsbedingungen auf das Gewicht der Jungtiere erfaßt werden.

Die Versuchstiere wurden in einer verstellbaren Vorrichtung für die Operation und die anschließenden elektrophysiologischen Messungen ruhiggestellt. Der Kopf war nur leicht durch verschiebbare Wangenpolster fixiert. Auf Halterungen in Nasenbereich wurde verzichtet, um die freie Respiration nicht zu behindern. Um Irritationen durch mechanische Reize (Luftstrom) zu vermeiden, wurden die Sinushaare über den Augen und an den Nasenflügeln kurz geschnitten. Nach dem Scheren des Kopfhaares wurde die Operationsstelle zwischen

den Augen mit einem Lokalanästhetikum (Xylocain 4% ®) percutan und 0,01-0,05 ml subcutan betäubt. Nach etwa 5 min. zeigten die Tiere keinerlei Reaktionen auf den Eingriff. Unter einer binokularen Arbeitslupe (25 x) wurde in Höhe einer gedachten Verbindungslinie zwischen beiden Augen ein Stück Kopfhaut entfernt. Die Knochenhaut wurde lateral von der medianen Sutur eingeritzt und beiseite geschoben. Daraufhin wurde mit einem Zahnarztbohrer ein 0,5 mm großes Loch ins Os frontale, zentral über einem Bulbus olfactorius gebohrt, dessen Lage bei den jüngeren Tieren durch die Schädeldecke sichtbar ist.

Die vorbereiteten Elektroden bestanden aus Wolframdraht (50 µm ∅), der in einer Stahlhülse (0,5 x 8 mm) als Schaft eingeklemmt war. Das vordere Ende des Schaftes war zusätzlich mit einem abgeflachten, ausgehärteten Tropfen eines Dentalkunststoffes (Paladur ®) versehen. Der aus dem Kunststoff herausragende Elektrodendraht war vorher mit Isolierlack (Insl X ®) überzogen worden und wurde vor dem Einsetzen auf eine, dem Altersstadium der Versuchstiere entsprechende Länge abgeschnitten. Die notwendigen Elektrodenlängen waren vorher an Gewebeschnitten ermittelt worden (Tab. 2.1). Die leitende Schnittfläche besaß einen Gleichspannungswiderstand von 0,2-0,3 MΩ . Mit Hilfe eines schnell bindenden Cyanoacrylat-Klebers ließ sich der Schaft der eingeführten Elektrode auf der Schädeldecke fixieren. Die einwandfreie Lage der Elektrode in Zentrum des Bulbus konnte anschließend anhand des oszillographischen Bildes (Amplitude, Frequenz) festgestellt werden. In insgesamt 5 Fällen mußten die Versuche wegen einer ungünstig plazierten Elektrode abgebrochen werden. Jedes Versuchstier konnte nur einmal zu den elektrophysiologischen Untersuchungen herangezogen werden; sie wurden nach dem Versuch schmerzlos getötet.

Alter	Elektrodenlänge (mm)
14	1,0 ±0,1
19	1,1 ±0,1
26	1,3 ±0,1
35	1,4 ±0,1
70	1,6 ±0,1

Tab. 2.1

2.3. Mess- und Analysegeräte

Die Ableitung der neuralen Summenaktivität des Bulbus olfactorius erfolgte differentiell gegen die am ipsilateralen Ohr angebrachte Referenzelektrode. Über das kontralaterale Ohr war das Tier mit Masse verbunden; die Meßvorrichtung war zur Abschirmung von Störeinflüssen in einem Faraday-Käfig untergebracht.

Die Summenpotentiale des Bulbus olfactorius sind charakterisiert durch zwei Hauptkomponenten: Einem langsam sinusförmig verlaufenden Potential (< 10 Hz), das mit der Atmung korreliert ist, setzt sich mit zunehmendem Alter der Versuchstiere ein höherfrequenter Wellenzug (Oszillationen, 30 - 100 Hz) kurz nach der Inspirationsphase auf (Iwahara, 1973; Schmidt, 1978; Schmidt et.al. 1983; Eckert und Schmidt, 1983) (Abb. 2.3). Da insbesondere der Frequenzbereich der Oszillationen analysiert werden sollte, wurden die abgeleiteten, 500 fach verstärkten Bulbus-Potentiale (FET Verstärker: WPI Dam 5A) einem elektronischen Bandpassfilter (Krohn-Hite, Model 3750; 24 dB Abschwächung/Oktave) zugeleitet, der den Frequenzbereich <15 Hz und >130 Hz eli-

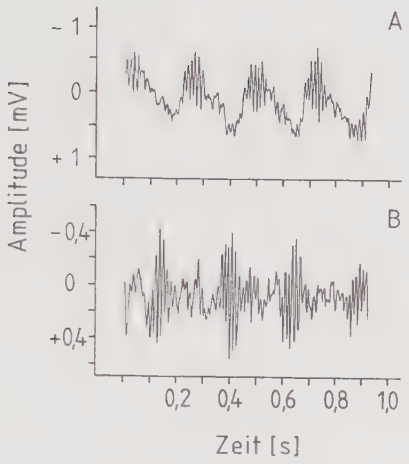


Abb. 2.3: Oszillogramme der Summenpotentiale des Bulbus olfactorius (adulte Maus)
A : ungefiltertes Signal
B : gefiltertes Signal (Bereich: 15 - 130 Hz; 24 dB Abschwächung/Oktave)

minierte. Auf einem Zweistrahloszillographen (Tektronix 5113; 1 Kanal "chopped") konnten sowohl die gefilterten, als auch die ungefilterten Signale sowie der Reizgeber "on line" beobachtet werden. Ein nachgeschalteter Computer übernahm die Aufnahme und Analyse der Potentiale, wobei jeder Analyseschritt auf einem digitalen Display kontolliert werden konnte. Die einzelnen Registrierungen ("Sweeps") wurden auf Disketten abgespeichert (Abb. 2.4).

2.4. Duftstoffe; Reizapplikation

Zur olfaktorischen Stimulation wurde der Duft von zwei

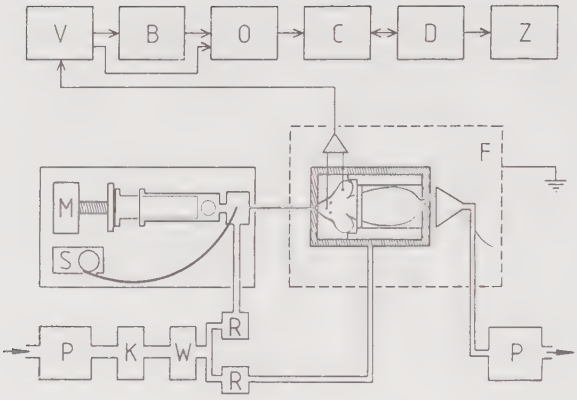


Abb. 2.4: Aufbau der Versuchsanlage (schematisch)
B : Bandpassfilter; C : Computer; D : Diskettenlaufwerke; F : Faradaykäfig; K : Kohlefilter; M : Motor des Olfaktometervorschubs; O : Oszillograph; P : Pumpe; R : Regler für Luftzufuhr; S : Servo für Drehventil; V : Verstärker; W : Waschflasche (Aqua dest.); Z : Plotter

synthetischen monomolekularen Reinsubstanzen (Geraniol, Buttersäure), der Duft des frischen Nestmaterials sowie als Kontrolle reine, gefilterte Luft mit der Gasphase von duftfreiem Paraffin (Lösungsmittel des Geraniols) eingesetzt (Abb. 2.5). Die Temperatur im klimatisierten Versuchsraum betrug 20 ±2 °C.

Geraniol, ein Terpen des Rosenöls ist als aliphatischer Alkohol ($(CH_3)_2 C=CHCH_2-CH_2-C(CH_3)=CHCH_2OH$) bei Zimmertemperatur flüssig (MW.: 154,25 ; Kp.: 230 °C). Es wurde

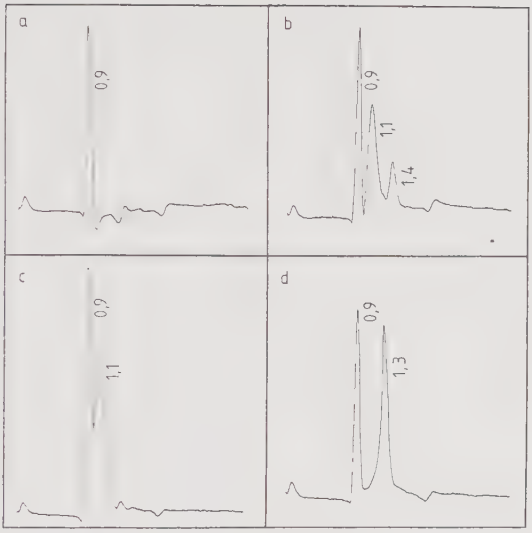


Abb. 2.5: Gaschromatogramme der applizierten Gasphasen
a) gefilterte Luft über reinem Paraffin (Kontrolle)
b) Nestmaterial (hier Tag 19)
c) Buttersäure in Aqua dest. 1:100 (Vol.)
d) Geraniol in Paraffin 1:100 (Vol.)
Verfahren: wie vor (Abb. 2.1)

in einer Verdünnung von 1:100 in flüssigem Paraffin (Uvasol® - Qualität) verwendet ("GE 10^{-2} Vol.%").

Buttersäure ist eine aliphatische Monocarbonsäure ($CH_3-(CH_2)_2-COOH$) (MW.: 88,11 ; Kp.: 164 °C) und ist leicht mit Wasser verdünnbar. Sie wurde in einer Konzentration von 1:100 in Aqua dest. angewendet ("BS 10^{-2} Vol.%").

Nestmaterial wurde stets vor dem Reinigen der Käfige

(ca. 24 Std. alt) entnommen und nur einmal für das entsprechende Versuchstier benutzt. Die Duftkomponenten sind abhängig von verschiedenen Faktoren wie z.B. der Ernährung oder dem Entwicklungsstand der Jungtiere (Brown, 1982). Eine Quantifizierung war hier nicht möglich ("Nest").

Die Applikation der Duftstoffe erfolgte mit Hilfe eines Spritzenolfaktometers, dessen Glasspritzen (50 ml) 10 min. vor Beginn der Versuche mit ca. 1 g Nestmaterial bzw. 0,5 ml der flüssigen Substanzen (in Plastiknäpfen 8 mm ⌀) beschickt worden waren. Der Glaskolben wurde während der Stimulation von einem Schrittmotor vorgeschoben (1 ml/s). Zwischen der Applikationskanüle (Luer Nr. 100), die 3 mm vor der ipsilateralen Nasenöffnung des Tieres endete, und dem Spritzenanschluß befand sich ein speziell entwickeltes, servogesteuertes Drehventil (Eckert, 1983). Es erlaubte bei der Duft-Präsentation von einem kontinuierlichen Luftstrom gefilterter, angewärmter und befeuchteter Frischluft auf die aus der Spritze austretende Gasphase der Duftstoffe umzuschalten. Nach Reizende strömte wieder Frischluft aus. Auf diese Weise wurde weitgehend der Effekt unterdrückt, daß die Mäuse bei einem abrupt auftretenden Luftstrom unabhängig vom Duft mit einem veränderten Atemrhythmus reagierten.

Von der umgebenden Raumluft war das Tier durch einen rings um die Halterung von unten austretenden, nochmals gefilterten Luftstrom (600 ccm/min) abgeschirmt. Dicht über dem Kopf befand sich eine Absaugvorrichtung (Abb. 2.4).

2.5. Versuchsablauf

Jeder Duftstoff wurde bei den einzelnen Versuchstieren 4 mal hintereinander mit einer Dauer von je 4,5 s und in einem zeitlichen Abstand von 4 min. appliziert. Zum Ausgleich der Steuerzeit des Drehventils wurden die Registrierungen (4 s) mit einer Verzögerung von ca. 0,2 s gestartet.

Zwischen den einzelnen Duft-Präsentationen erfolgten jeweils Registrierungen der neuronalen Aktivität ohne Reiz (frühestens 60 s nach der Stimulation). Zu Beginn jedes Versuchsprogrammes wurde als Kontrolle 3-4 mal reine Luft appliziert und ebenfalls dazwischen die neurale Aktivität ohne "Reiz" aufgenommen. Die synthetischen Duftsubstanzen wurden in der Reihenfolge von Tier zu Tier willkürlich abgewechselt, während Nestduft, da eine hohe Adaptation zu erwarten war, stets zum Schluß geboten wurde. Am Ende des Versuchsprogrammes erfolgten 2-3 weitere Kontroll-Präsentationen von reiner Luft, um den Einfluß des ca. einstündigen Versuchs auf das Antwortverhalten der Tiere zu erfassen. Von jedem Versuchstier lagen schließlich 17-19 Registrierungen bei Stimulation und ebenso viele ohne olfaktorischen Reiz vor.

3. Datenverarbeitung; Statistik

Messen besteht darin, daß wir Objektrelationen, die nicht unsere Erfindung sind, auf Zahlenrelationen abbilden, die unsere Erfindung sind.

(Sixtl, 1967)

3.1. Datenakquisition

Die Aufnahme und Auswertung der Bulbus-Potentiale erfolgte mit Hilfe eines Datenprozessors (Nicolet Med 80; 32 kbyte RAM; BASIC-Compiler), dessen Software z.T. bereits in vorangegangenen Untersuchungen entwickelt worden war (Eckert, 1983; Eckert und Schmidt in Vorb.). Für die speziellen Anforderungen dieser Arbeit mußten die Programme erweitert und optimiert werden, so daß parallel zur laufenden Aufnahme die einzelnen Registrierungen bereits analysiert und graphisch zu Papier gebracht werden konnten (Nicolet Zeta Plotter 160). Anhand dieses laufenden Versuchsprotokolls war u.a. die Kontrolle der Elektrodenposition, des Tierverhaltens oder das Auffinden von Störeinflüssen möglich.

Die abgeleiteten Summenpotentiale bilden ein Gemisch aus frequenz- und amplitudenmodulierten Schwingungen, die vom A/D-Wandler des Computers innerhalb eines vorgegebenen Zeitfensters (4 s) in 1024 digitale Einheiten (1 kByte) zerlegt wurden. Die "dwell-time" (Verweildauer) pro Byte betrug 3,91 ms (4000 ms ÷ 1024); zusätzlich mußte eine ebensolange "silent time" für weitere Operationen, z.B. Basislinienkorrektur, hinzugerechnet werden, wodurch die maximal erfaßbare Frequenz auf 128 Hz (Nyquist Theorem) bei einer Auflösung von 0,13 Hz begrenzt war (0,5 ÷ (4 ÷ 1024)). Zwei Unterprogramme (Fourier Frequenz Transformation, Power Spektrum

Density; Nicolet Corp.Software) berechneten die Amplituden der Teilschwingungen und stellten sie als Funktion der zugehörigen Frequenzen dar (Spektrum eines Sweeps). Auf der Ordinate ist die Energiedichte pro 4 s , auf der Abszisse die Frequenz abgetragen. Die einzelnen Sweeps wurden auf Floppy-Disk (Nicolet Storage Unit 299) gespeichert.

Anmerkung: Die elektrische Energie eines Power-Spektrums kann nur bedingt in der exakten Einheit $W \cdot s^{-1}$ angegeben werden, da eine vom Computer durchgeführte Fourier Transformation je nach Auslegung der Software nur eine Annäherung an den erforderlichen "unendlichen Imaginärteil" erreicht. Auch in der Literatur wird bei Power-Spektren allgemein nur die relative Energiedichte pro Zeiteinheit bzw. "relative Energie" (z.B. Deza und Eidelberg, 1967) beschrieben. In den nachfolgenden Abbildungen werden deshalb nur relative Energie-Einheiten aufgeführt, wobei -ermittelt an Eichmessungen- eine Einheit etwa $1{,}9 \cdot 10^{-7}$ $W \cdot 4\ s^{-1}$ elektrischer Leistung entspricht.

3.2 Datenreduktion

Von den 84 Versuchstieren, die zur Auswertung kamen, lagen 2856 Registrierungen mit einer Information von insgesamt 2,8 Mega-Byte vor. Um diese Information zu komprimieren und einer statistischen und graphischen Auswertung zugänglich zu machen, wurden die Spektren von je 3 Sweeps eines Versuchsmodus' aufsummiert und gemittelt (Average). Eine anschliessende Integration über Intervalle von 5 Hz und den Bereich 15 - 125 Hz lieferte einerseits die Energiewerte für jedes Frequenzintervall, andererseits die Gesamtenergie des Spektrums. Da sich junge und alte Tiere in der Gesamtenergie der neuralen Aktivität stark unterscheiden, waren die Werte der einzelnen Intervalle zusätzlich prozentual zur Gesamtenergie ausgedrückt.

Die Energiewerte von jeweils 44 Frequenzintervallen (22 bei Stimulation; 22 ohne Stimulus) einer Duftpräsentation waren das Ausgangsmaterial für die anschließend durchgeführten Analysen und Rechenoperationen (Abb. 3.1; Nr. 1-4).

Als Reizantworten auf die verschiedenen Duftstoffe waren generell Frequenzveränderungen in den Spektren der abgeleiteten Potentiale zu erwarten. Ein spezielles Computer-Programm erlaubte für jedes einzelne Tier den Vergleich aller durch Integration ermittelten Energiewerte (5-Hz-Intervalle) des Spektrums bei Stimulation mit demjenigen ohne olfaktorischen Reiz.

Mit Hilfe der Formel :

$$V = \sum \frac{a^2_i}{a_i + b_i} - \frac{(\sum a_i)^2}{\sum a_i + \sum b_i}$$

der eine in den statistischen Methoden gebräuchliche Rechenoperation zugrunde liegt (Cochran, 1954), konnte das Ausmaß der Frequenzänderungen in einer Bewertungszahl "V" wiedergegeben werden. In der computergestützten Rechenoperation werden in die Variable a(i) die 22 Energiewerte des über 5-Hz-Intervalle integrierten Power-Spektrums bei Reiz, und in die Variable b(i) entsprechend die Intervall-Energiewerte des Spektrums ohne Reiz eingesetzt. Wenn die Verteilung der Gesamtenergie auf die einzelnen Frequenzintervalle in beiden Spektren nicht identisch ist, so resultieren V-Werte größer Null. Der numerische Wert von V nimmt mit zunehmender Ungleichheit der beiden Spektren zu. In die Variablen a und b wurden entweder die effektiven Energiewerte (effektives Verteilungsmaß), oder die prozentual auf die Gesamtenergie des Spektrums bezogenen Energiewerte (relatives Verteilungsmaß) eingesetzt. Im zweiten Fall ist die Zahl ("V. rel.") nur proportional zum Grad der Frequenzänderungen bei Stimulation, im ersten Fall ("V. eff.") zusätzlich proportional zur neu-

ronalen Aktivität des Versuchstieres.

Um detaillierte Kenntnisse über den Einfluß der Duftreize auf den Frequenzbereich der Oszillationen zu gewinnen, und diesen qualitativ beschreiben zu können, führte ein weiteres Computer-Programm eine Differenzanalyse der Powerspektren durch. Diese auch in der Humanmedizin angewandte Methode zur Analyse von Elektroenzephalogrammen (Matejcek et.al., 1984) ermittelt durch die Subtraktion zweier Spektren die Frequenzbereiche, die als Folge eines Reizes (oder Droge) eine Veränderung erfahren. Unbeeinflußte Bereiche heben sich dabei gegenseitig auf. Voraussetzung dafür ist, daß die Gesamtenergie der beiden Spektren gleich groß ist. Da dies bei den meisten Registrierungen nicht der Fall war, wurde zunächst der Quotient aus beiden Gesamtenergiewerten berechnet : ($Q = \int E(s) \div \int E(ps)$) und mit dem ermittelten Wert von Q alle Energiewerte (1024) eines Spektrums multipliziert (kompensiert). Das Ergebnis waren zwei flächengleiche Power-Spektren, die dann durch Subtraktion auf Frequenzverschiebungen untersucht werden konnten (Abb. 3.1; Nr. 4-6). In der graphischen Darstellung lassen sich die positiven Anteile auf Frequenzbereiche zurückführen, die während des Reizes prominent waren; die negativen waren in den Spektren ohne olfaktorischen Reiz stärker vertreten. Die Differenz ΔE ($\int E(s) - \int E(ps)$) ist abhängig vom Ausmaß der induzierten Oszillationsfrequenz-Änderungen und von der neuralen Aktivität des Tieres. ΔE wurde prozentual zur Gesamtenergie ausgedrückt und, da in diesem Verfahren die Spektren auf Abweichungen von der Deckungsgleichheit geprüft werden, als "Inkongruenzmaß" bezeichnet.

3.3. Statistische Methoden

Zur Auswertung biologischer Meßdaten haben sich in den letzten Jahren zunehmend die nicht parametrischen Verfahren

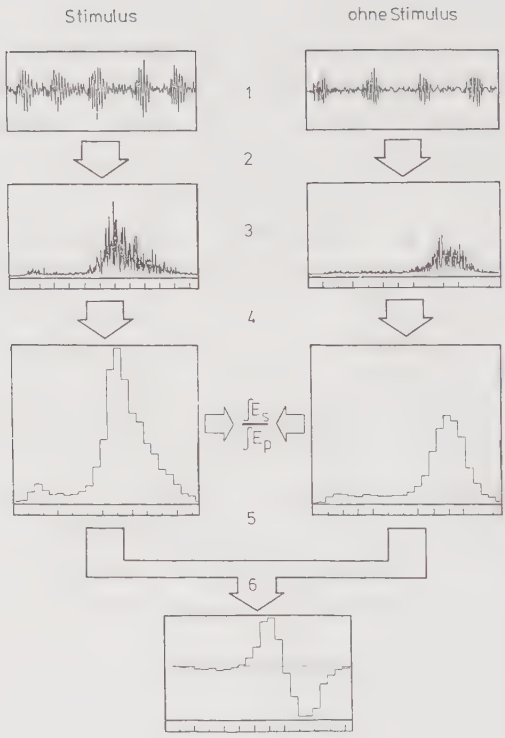


Abb. 3.1: Schematisierte Darstellung der Computeranalyse von Summenpotentialen bei - und ohne olfaktorischen Stimulus.
1. Originalregistrierungen (4 s Sweeps); 2. Fouriertransformation; 3. Power-Spektrum; 4. Average, Integration; 5. Flächenanpassung (Kompensation); 6. Subtraktion der Spektren und Abbildung der veränderlichen Frequenzbereiche (positiv: bei Stimulus; negativ: ohne Stimulus). Näheres im Text.

der Biostatistik durchgesetzt. Verteilungsfreie Verfahren sind Methoden, die auf jede Art der Häufigkeitsverteilung von Meßwerten, darüber hinaus aber auch auf Rangdaten und qualitative Informationen angewendet werden können. Das bedeutet, daß sie nicht an das Vorliegen einer Normalverteilung gebunden sind und auch dann herangezogen werden dürfen, wenn die Verteilung der Grundgesamtheit, der die Meßwerte angehören, von der Normalität abweicht oder überhaupt unbekannt ist (Lienert, 1973).

Da klassische Testmethoden, z.B. Students t-Test oder Pearson Korrelationen nur unter einer Normalverteilungshypothese angewendet werden dürfen (die häufig ungerechtfertigt aufrecht erhalten wird), schieden sie für die hier vorliegenden Meßdaten aus.

Für Lokationsvergleiche zweier unabhängiger Stichproben wurde der U-Test von Mann-Whitney (Mann und Whitney, 1947) eingesetzt, dessen Effizienz in Anwendung auf normal verteilte Populationen asymptotisch bei $3/\pi = 0{,}955$ liegt und damit eine sehr hohe Aussagekraft besitzt (Dixon, 1954). Die Nullhypothese für den einseitigen Test wurde bei $p \leq 0{,}05$ abgelehnt.

Friedmans Rangvarianzanalyse diente zur Untersuchung von Lokationsunterschieden mehrerer abhängiger Stichproben (verschiedene Duftstoffe bei einem Tier). Sie gilt als das verteilungsfreie Gegenstück zur parametrischen Varianzanalyse, wobei ihre asymptotische relative Effizienz nach der Beziehung: $A.R.E. = 3/\pi \cdot (k/(k+1))$ von der Zahl der Behandlungen abhängig ist und für die durchgeführten Tests zwischen 0,72 (k=3) und 0,76 (k=4) lag. Die Prüfgröße x^2r berechnet sich nach der Formel (Sachs, 1979) zu:

$$\chi^2_r = \frac{12}{N \cdot k\ (k+1)} \sum_{j=1}^{k} T_j^2 - 3\ N\ (k+1)$$

N = Anzahl der Individuen

k = Anzahl der Behandlungen

T = Spaltensummen der Rangzahlen (j = 1...k)

Der Friedman Test stellt lediglich eine "Omnibus"-Alternativhypothese und läßt keine Aussage zu, welche der k Behandlungen einen Effekt hatte. Zu diesem Zweck wurde der L-Test von Page (1963; zitiert in Lienert 1973) angewendet, der der Nullhypothese eine Trend-Alternativhypothese gegenüberstellt. Diese besagt, daß die Behandlungsarten 1 bis k einen zunehmend stärkeren Einfluß auf die untersuchten Variablen ausüben und einen Anstieg der Populationsmediane bewirken. Der exakte Test lautet: $L = \Sigma j \cdot Ti$ (j = aufsteigend geordnete Rangzahlen; Ti = Rangsummen). Eine Irrtumswahrscheinlichkeit von 5% wurde zugelassen.

Auch bei den abhängigen Stichproben stellte sich die Aufgabe, einen Vergleich mit einer Kontrolle (Luft) durchzuführen. Ähnlich dem post hoc Verfahren in Duncan's multiple range test (Harter, 1960) bietet der d(i)-Test von Wilcoxon und Wilcox den nicht-parametrischen Test für den (k-1)fachen Lokationsvergleich für Daten aus einer Varianzanalyse. Als Prüfgröße dient die absolute Differenz d(i) zwischen den Rangsummen T(i) der Behandlung i und der Rangsumme der Kontrolle T(o). Auch hier wurde die Nullhypothese bei $p \leq 0{,}05$ verworfen.

Da in alle statistischen Test-Methoden die Rangzahlen der einzelnen Meßwerte eingehen, sind im Tabellenanhang die jeweiligen Mediane $\tilde{x}$ als verteilungsfreies Pendant zum arithmetischen Mittelwert $\bar{x}$ (Abbildungen) angegeben. Die

Streuung der Daten (Extremwerte) ist ebenfalls dem Tabellenanhang zu entnehmen.

Für die Durchführung der statistischen Studien stand ein IBM -Personal-Computer mit MS-DOS 2.0 zur Verfügung; die notwendige Software wurde selbst geschrieben.

4. Ergebnisse

4.1 Experiment 1

4.1.1. Entwicklung der neuronalen Aktivität

In dem hier durchgeführten Experiment 1 wuchsen die Jungtiere entweder in einer durchgehend duftarmen Umgebung auf (Reihe K), oder sie waren während der ersten 13 Lebenstage mit einer einzelnen dominierenden Duftsubstanz (Geraniol) konfrontiert (Reihe E1). Zunächst soll der Einfluß dieser Duftexposition auf die Entwicklung der Bulbusaktivität untersucht werden.

Die Gesamtenergie der integrierten Power-Spektren diente als Maß für die Intensität der neuronalen Aktivität in den verschiedenen Altersstadien. Die Energiewerte der Normalaktivität (ohne Stimulus) wurden von den Versuchstieren einer Altersgruppe gemittelt und die beiden Versuchsreihen gegenübergestellt (Abb. 4.1).

In Reihe K folgt einem steilen Anstieg bis Tag 26 eine Phase gleichbleibender Aktivität (Tag 35), die ca. 50% der Adultaktivität (Tag 70) aufweist. In Reihe E1 flacht sich der gleichförmige Zuwachs (jeweils Verdoppelung der Energie in den aufeinanderfolgenden Altersstadien) nach der 5. Woche ab; die adulten Tiere erreichen im Mittel nicht so hohe Werte wie die Kontrollen. Die Unterschiede zwischen Reihe E1 scheinen nicht systematisch aufzutreten und sind in keinem Fall statistisch signifikant (U-Test: $U \geq 9$; $p > 0{,}05$). Die 13-tägige Duftbelastung hatte damit in den einzelnen Altersstadien der Reihe E1 keinen meßbaren Einluß auf die neuronale Gesamtaktivität des Bulbus olfactorius.

Die einstündige Dauer eines Versuches legte die Vermutung nahe, daß sich insbesondere in den Altersgruppen 14 und 19

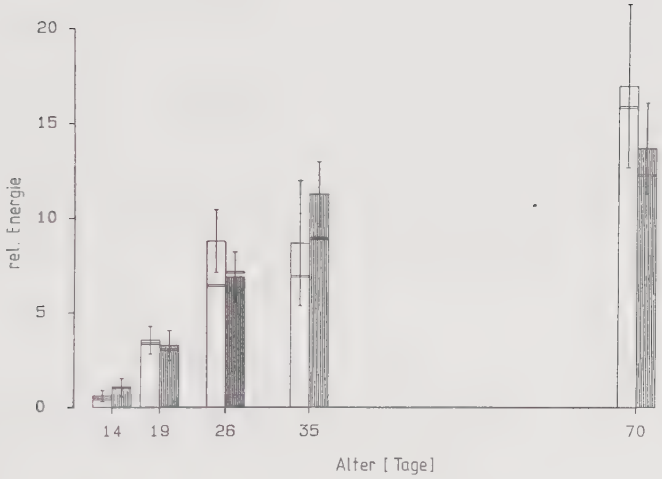


Abb. 4.1: Neuronale Gesamtenergie ohne olfaktorischen Reiz; ermittelt durch Integration der Power-Spektren. (Arithmetische Mittelwerte ± $s(\bar{x})$)
○ : Reihe K (Luft v.) ||| : Reihe E1 (Luft v.)
Ordinate: Relative Energiedichte pro 4 s.
Horizontale Doppellinien markieren die mittlere Gesamtenergie am Ende des Versuches (Luft n.)

durch Ermüdungserscheinungen Änderungen der neuronalen Aktivität ergeben und damit einen Einfluß auf das Reiz-Antwortverhalten haben könnten. Auch war infolge der Läsion des Bulbusgewebes mit einer Infiltration von Gewebsflüssigkeit und damit veränderten übergangswiderständen an der Elektrode zu rechnen. Die Registrierungen der Normalaktivität nach dem Versuch geben darüber Aufschluß, daß insgesamt ein leichter

Energieverlust zu verzeichnen ist, jedoch liegt in praktisch allen Altersstadien die Gesamtenergie noch deutlich innerhalb der Streuungsbreite der Mittelwerte vor dem Versuch (Abb. 4.1). Ausnahmen bilden in Reihe K die Gruppe 26 und in Reihe E1 die Gruppe 35, in denen noch ca. 75% (73,7% ; 78,7%) der Ausgangsenergie gemessen wurden. Der Energieverlust ist in beiden Fällen statistisch nicht signifikant (U ≥ 11).

Insofern kann davon ausgegangen werden, daß die sukzessive gebotenen Duftstoffe (Nest wurde immer zum Schluß geboten) nicht mit einer methodisch bedingten Änderung der abgeleiteten neuronalen Aktivität zusammentrafen.

4.1.2. Entwicklung des Frequenzspektrums

Neben einer allgemeinen Erhöhung der neuronalen Aktivität treten in den Bulbuspotentialen junger Mäuse etwa ab dem 14. Lebenstag -zunächst noch niederfrequent- charakteristische, spindelförmige "bursts" sinusoidal verlaufender Potentialveränderungen (Oszillationen) auf, die mit zunehmendem Alter der Tiere höherfrequent werden und etwa in der 5. Lebenswoche den für Adulttiere typischen Frequenzbereich von 70 Hz-100 Hz erreichen (Schmidt et.al., 1983). Der zeitliche Verlauf der Frequenzentwicklung unterliegt jedoch auch exogenen Faktoren. So kann eine ununterbrochene, intensive olfaktorische Stimulation während des Heranwachsens der Tiere ein frühzeitigeres Auftreten der Ozillationen, sowie veränderte Frequenzbereiche gegenüber normal aufgezogenen Tieren auslösen (Eckert und Schmidt, 1983). Ob bereits eine 13-tägige Duftbelastung einen Einfluß auf die spektrale Zusammensetzung und den Zeitverlauf der Frequenzentwicklung hat, sollen die nachfolgenden Untersuchungen zeigen.

Zur Auswertung wurden die Power-Spektren herangezogen, die vor den Duftpräsentationen ohne Stimulation (Luft v.; ohne Stimulus) registriert worden waren. Die Entscheidung,

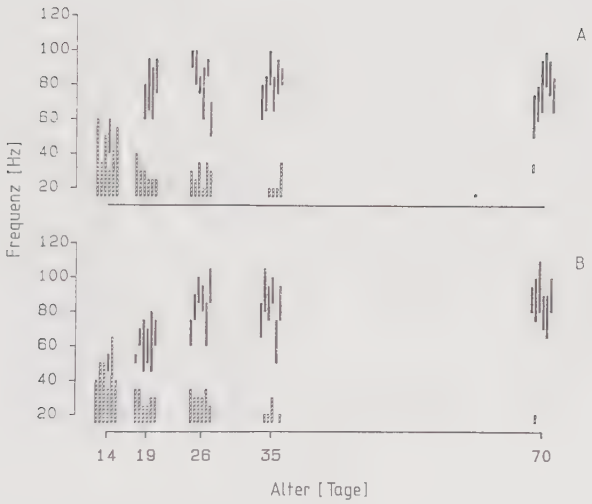


Abb. 4.2: Frequenzzusammensetzung der Bulbus Potentiale (Einzelergebnisse der Versuchstiere)

▨ : Prominenter, niederfrequenter Anteil des Spektrums

● : Prominenter, hochfrequenter Anteil (Bereich der Oszillationen)

A : Reihe K B : Reihe E1

welche Frequenzbereiche in den Spektren stärker und welche schwächer vertreten sind, ging von der Überlegung aus, daß bei einem völlig homogen verteilten Spektrum (15-125 Hz) jedes 5-Hz Intervall 4,5% der Gesamtenergie besitzt (100% ÷ 22 Intervalle). Ein als "prominent" eingestuftes Frequenzintervall mußte den Wert der homogenen Verteilung um min-

destens 20% überschreiten (i.e. ≥ 5,45 %). Die so gefundenen Frequenzbereiche sind für jedes einzelne Tier in Abb. 4.2 aufgetragen. Außerdem wurde zwischen einem niederfrequenten - und einem hochfrequenten Bereich unterschieden, sofern die Spektren zweigipfelig waren, oder Anteile oberhalb von 50 Hz aufwiesen.

Der Gesamtverlauf läßt zwischen beiden Untersuchungsreihen kaum Unterschiede erkennen. In Altersgruppe 19 können etwas höhere Frequenzen in Reihe K beobachtet werden, während in Gruppe 70 die Tiere der Reihe E1 im Mittel etwas höhere Oszillationsfrequenzen erreichen. Frequenzbereiche, die über 100 Hz hinaus gehen, werden nur in Reihe E1 gefunden (3 Tiere). Deutlich zu erkennen ist die Aufspaltung der Spektren in nieder- und hochfrequente Bereiche, die bereits in Altersgruppe 14 in beiden Reihen einsetzt. Die oberen Frequenzanteile verlagern sich später in den Bereich 70-100 Hz . Die Breite der niederfrequenten Anteile verringert sich mit fortschreitendem Alter der Tiere stetig. Da die hochfrequenten Bänder jedoch nicht im gleichen Maße zunehmen, sondern eher eine konstante Breite haben (20 Hz-35 Hz), muß der Energierückgang im unteren Frequenzbereich durch einen Energiegewinn hoher, monofrequenter oder engbandiger Aktivitäten in den abgeleiteten Summenpotentialen ausgeglichen worden sein. Bestätigt wird dieser Zusammenhang durch eine Auswertung der Einzelsweeps: Mit fortschreitendem Alter der Tiere nehmen vor allem die Amplituden der Oszillationen etwa um den Faktor 10 zu (bis Tag 70).

Einen weiteren Aspekt vermittelt Abb. 4.3 , in der die mittlere Energieentwicklung im Frequenzbereich 30-100 Hz prozentual für jede Altersgruppe dargestellt ist (Bezug : 15-125 Hz = 100 %). In beiden Reihen nimmt die Energie hochfrequenter Aktivitäten von weniger als 50% auf nahezu 80% (Tag 70) zu. Gleichzeitig geht der überproportionale Anteil

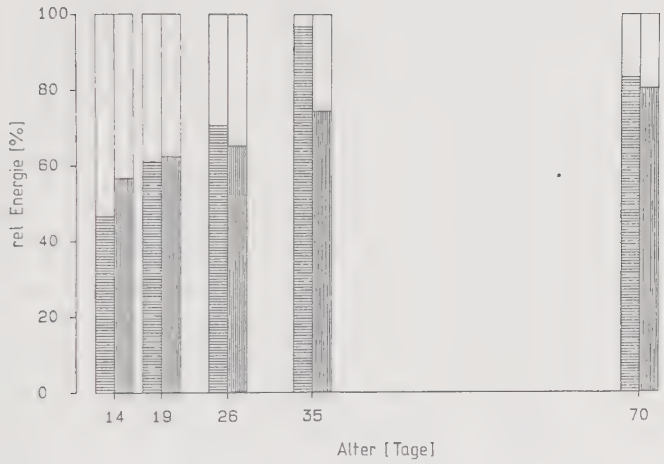


Abb. 4.3: Energieanteil des Oszillationsfrequenzbereiches (30 Hz - 100 Hz) am Gesamtspektrum.
(Bereich 15 - 125 Hz = 100 % ; Gruppenmittelwerte)
: Reihe K : Reihe E1

niederfrequenter Aktivitäten (15-30 Hz) stark zurück. Frequenzen über 100 Hz erreichen im Mittel in beiden Reihen nicht mehr als 5% der Gesamtenergie (nicht abgebildet).

Bei der Beurteilung, ob zwischen Reihe E1 und Reihe K Unterschiede bestehen fällt auf, daß nur unter Berücksichtigung der ersten 35 Tage ein deutlich steilerer Anstieg in Reihe K zu sehen ist. Unter der Annahme einer Normalverteilung (arithmetische Mittelwerte) ist die Zunahme fast ideal linear (r = 0,99) und erheblich steiler (m = 2,29) als der

Anstieg in Reihe E1 (m = 0,80), der aber ebenfalls streng linear (r = 0,99) verläuft. Werden in beiden Reihen jedoch die Adult-Tiere mit einbezogen, so ist eine Linearität insbesondere in Reihe K nichtmehr gegeben (r = 0,19). Da aber bei biologischen Wachstumsprozessen keine unendlich linearen Korrelationen zu erwarten sind, sondern Wachstumsraten immer asymptotisch einem Maximalwert zustreben, kann in Reihe K angenommen werden, daß, ausgehend von einem verhältnismäßig geringen Wert (Tag 14), nach einer fast linearen Zunahme die maximalen Energieanteile im Bereich 30-100 Hz bereits in der Altersgruppe 35 erreicht sind. In Reihe E1 würde in diesem Fall, beginnend mit einem höheren Ausgangswert (Tag 14), der flachere Anstieg evtl. zu Erreichen des Maximalwertes im Zeitraum zwischen dem 35. und 70. Lebenstag führen. Zwischen den Adult-Tieren der Reihe E1 und K treten jedoch keine Unterschiede mehr auf.

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß eine 13-tägige Duftbelastung nur geringe Unterschiede in der Entwicklung hochfrequenter Anteile in den abgeleiteten Potentialen des Bulbus olfactorius hervorruft. Deutlich veränderte Frequenzbereiche oder ein auffallend verschobener Zeitverlauf, wie sie z.B. bei permanent duftbelasteten Jungtieren auftreten, sind hier nicht zu verzeichnen. Unter Berücksichtigung interindividueller Abweichungen sind besonders die Spektren der adulten Tiere in beiden Reihen als gleichartig zu betrachten.

4.1.3. Neuronale Antworten auf olfaktorische Stimuli

Die Frequenzzusammensetzung eines Spektrums, das ohne Stimulation aufgezeichnet wurde, ist in keinem der Altersstadien auf konstante und unbeeinflßbare neuronale Aktivitätsmuster zurückzuführen. Schon die Periodizität der Atmung hat maßgeblichen Einfluß auf die Entladungsrate grös-

serer Neuronenverbände im Bulbus olfactorius (Macrides und Chorover, 1972; Chaput und Holley, 1980) und trägt damit zu einer Variabilität der niederfrequenten Anteile bei. Umgekehrt geht die Entladungsrate "burstender" Neurone fast völlig zurück, wenn die Nasenöffnungen vorübergehend verschlossen werden (Freeman und Schneider, 1982) und damit der rhythmische Luftstrom über der Mucosa, aber auch jegliche olfaktorische Reize unterbunden werden.

Die Veränderung der spektralen Zusammensetzung der Bulbus-Potentiale als Antwort auf olfaktorische Reize wurde erstmals von Boudreau (1964) bei Katzen beschrieben. Dabei haben Duft-Stimuli vor allem Einfluß auf die hochfrequenten Anteile des Spektrums und führen zu Frequenzveränderungen der Oszillationen (Schmidt C., 1982), die sich -altersabhängig- in Frequenzabsenkungen von etwa 5-15 Hz äußern (Schmidt et.al., 1983). Im Allgemeinen wird durch einen olfaktorischen Reiz jedoch das gesamte Spektrum beeinflußt. Sowohl die niedrigen, atmungskorrelierten - als auch die hochfrequenten, oszillationsbedingten Anteile können verändert gegenüber dem ungereizten Zustand auftreten. Auch die Amplituden der Summenpotentiale, die als Energiedichte pro Frequenzintervall in den Power-Spektren Eingang finden können stimulusabhängig variieren.

Methoden, wie Differenzen in Power-Spektren quantifiziert werden können, sind bereits mehrfach beschrieben worden. Obwohl das Vorgehen teilweise recht unterschiedlich ist (Fails et.al. 1977; Verlander und Huggins, 1977; Bressler, 1984; Matejcek et.al. 1984; Eckert und Schmidt, in Vorb.), zielen alle darauf ab, die Variabilität des gesamten Spektrums in einer einzelnen Maßzahl oder Graphik wiederzugeben.

Errechnete Maßzahlen dienen in der hier vorliegenden Untersuchung als ein Parameter zur Bewertung olfaktorischer

Reizantworten. Sie beziehen sich entweder auf das gesamte Spektrum (Verteilungsmaß) oder selektiv auf den Bereich der höherfrequenten Oszillationen (Inkongruenzmaß). Die so gefundenen "Meßwerte" müssen, folgt man den theoretischen Ausführungen von Pfanzagl (1959), als ordinal skaliert betrachtet werden. Das heißt, daß die Numerik der Zahlen keine Information über die Größenordnung der tatsächlich auftretenden Unterschiede olfaktorischer Sensitivität geben kann. Jederzeit zulässig sind dagegen Aussagen über Ordnungsrelationen zwischen den Werten der einzelnen Individuen und Behandlungen derart, daß die Werte als größer, kleiner oder gleich einem Vergleichswert eingestuft werden können und damit Information über die Rangverhältnisse der neuronalen Reizantworten auf verschiedene Behandlungen während der ontogenetischen Entwicklung des Geruchssinnes liefern.

Die Abbildungen 4.4 bis 4.8 geben als Beispiele einen optischen Eindruck von den Frequenz- und Energieveränderungen der Summenpotentiale, die als Antwort auf einen olfaktorischen Reiz auftreten. Für jede Altersgruppe sind die mittleren Frequenzspektren bei Stimulation mit Geraniol (waagerecht liniert) mit denen, die ohne Reiz (senkrecht liniert) aufgenommen wurden in Histogrammform übereinandergezeichnet. Sie vermitteln so eine Vorstellung von den variablen - (einfach linierten) und den weitgehend invariablen (doppelt linierten) Frequenzanteilen in den abgeleiteten Potentialen. Die Untersuchungsreihen E1 und K sind gegenüber gestellt.

An den energienormierten Power-Spektren läßt sich die im vorangegangenen Abschnitt beschriebene Energiezunahme zwischen dem 14. und 70. Lebenstag gut nachvollziehen. Auch die entwicklungsabhängige Frequenzverlagerung der Oszillationen von niederfrequenten - in hochfrequente Bereiche ist hier noch einmal zu erkennen. Auffällig sind die Umformungen in den Spektren, die bis Tag 19 vor allem im niederfrequenten

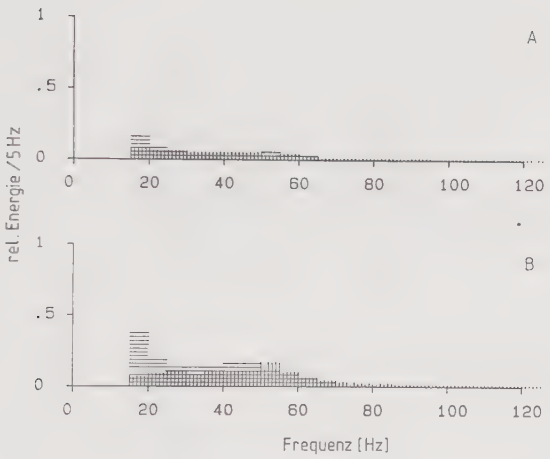


Abb. 4.4: Veränderung der Frequenzzusammensetzung bei Stimulation mit Geraniol (Tag 14).

: bei Reiz : ohne Reiz

A : Reihe K B : Reihe E1

Bereich (< 40 Hz) durch den Geraniol-Stimulus ausgelöst werden. Die Energie der einzelnen Intervalle kann bei Reiz mehr als die dreifache Höhe des Wertes ohne Stimulus annehmen (Reihe E1: Tag 14,19 ; 15-25 Hz), wobei die Energie konstant zu den niedrigeren Frequenzbereichen hin verlagert wird. In den späteren Altersstadien tritt, mit zunehmender Ausbildung der hochfrequenten Oszillationen, die Frequenzverschiebung eher im Bereich des 2. Frequenzmaximums auf und führt teilweise zu Verlagerungen um 10 Hz - 25 Hz in den niederfrequenten Bereich. Das Frequenzband der Oszillationen kann sich über einen Bereich von ca. 40 Hz erstrecken, was auf

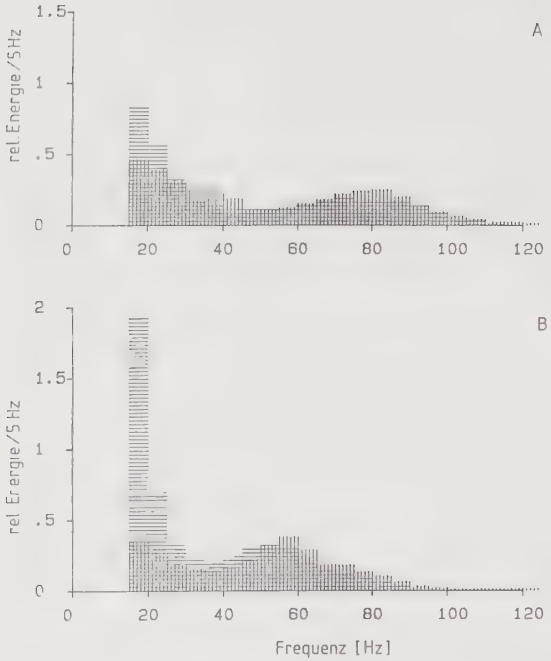


Abb. 4.5: Veränderung der Frequenzzusammensetzung bei Stimulation mit Geraniol (Tag 19).

: bei Reiz : ohne Reiz

A : Reihe K B : Reihe E1

ein Frequenzgemisch, bzw. frequenzmodulierten Schwingungen in den abgeleiteten Summenpotentialen schließen läßt. Von einem olfaktorischen Reiz wird der gesamte Oszillationsfrequenz-Bereich beeinflußt; die einhüllende Kurve des 2. Maximalbereiches wirkt daher bei Reiz "phasenverschoben" gegenüber dem ungereizten Zustand (Abb. 4.6 ; A,B). Daraus kann gefolgert werden, daß ein Duftreiz Einfluß auf die Gesamtheit der oszillierenden neuronalen Vorgänge im Bulbus aus-

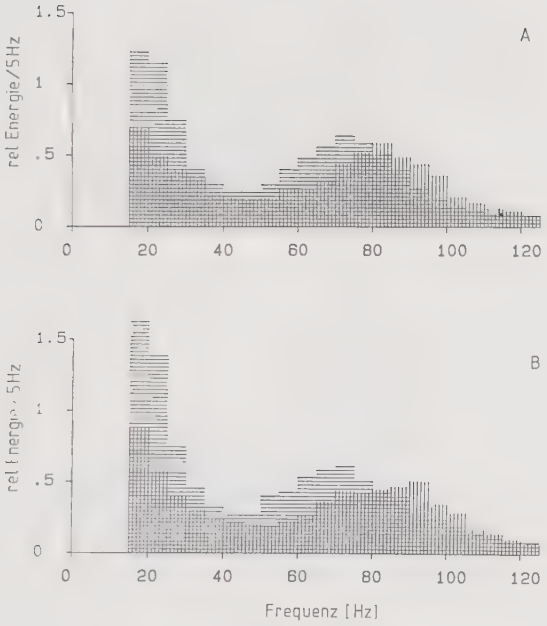


Abb. 4.6: Veränderung der Frequenzzusammensetzung bei Stimulation mit Geraniol (Tag 26).

: bei Reiz : ohne Reiz

A : Reihe K B : Reihe E1

übt. Dennoch reichen diese deskriptiven Studien nicht aus, um die komplexen Veränderungen, die infolge eines olfaktorischen Reizes in den Summenpotentialen des Bulbus olfactorius zu beobachten sind, vollständig zu erfassen. Ein objektivierendes Verfahren zur Analyse des Gesamteffektes war dadurch gefordert und wurde in den beschriebenen mathematisch-sta-

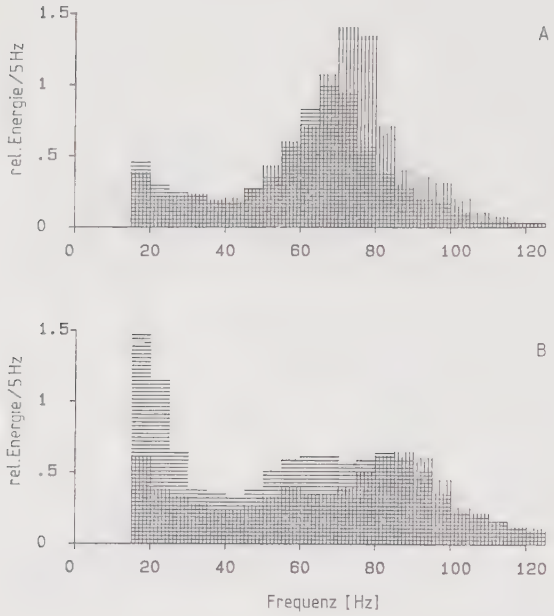


Abb. 4.7: Veränderung der Frequenzzusammensetzung bei Stimulation mit Geraniol (Tag 35).

: bei Reiz : ohne Reiz

A : Reihe K B : Reihe E1

tistischen Methoden gefunden.

Die Flächenverhältnisse zwischen den Spektren bei Reiz und denen ohne Reiz (Abb. 4.4 - 4.8) zeigen weiterhin, daß ein olfaktorischer Stimulus, neben einer Frequenzverschiebung, auch zu einer Veränderung der neuronalen Gesamtaktivität führen kann. Diese Energieunterschiede sind zusammenfassend für die drei verwendeten Duftstoffe in Abb. 4.9 aufge-

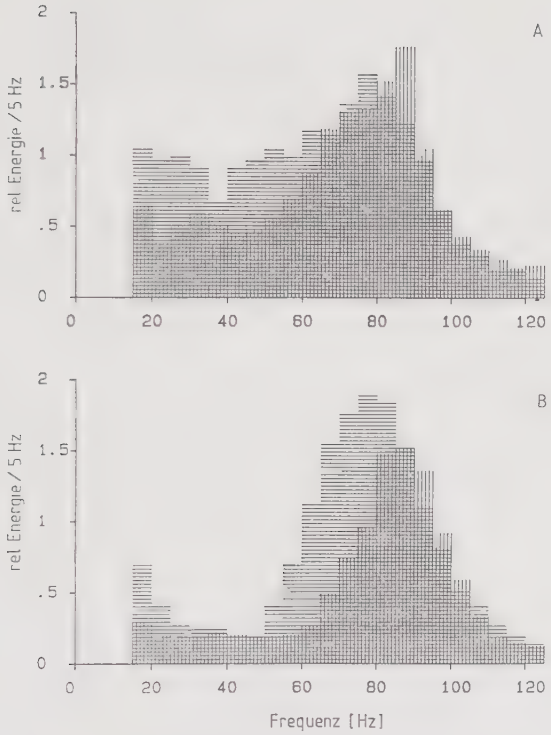


Abb. 4.8: Veränderung der Frequenzzusammensetzung bei Stimulation mit Geraniol (Tag 70).

: bei Reiz : ohne Reiz

A : Reihe K B : Reihe E1

tragen und es kann festgestellt werden, daß olfaktorische Stimuli in beiden Reihen bis zum 26. Lebenstag im Mittel zu einer leichten Aktivierung der neuronalen Gesamtenergie führen. Bemerkenswert ist das Ergebnis der 35 Tage alten Tiere in Reihe K; hier fällt die aktivierende Wirkung von Nestma-

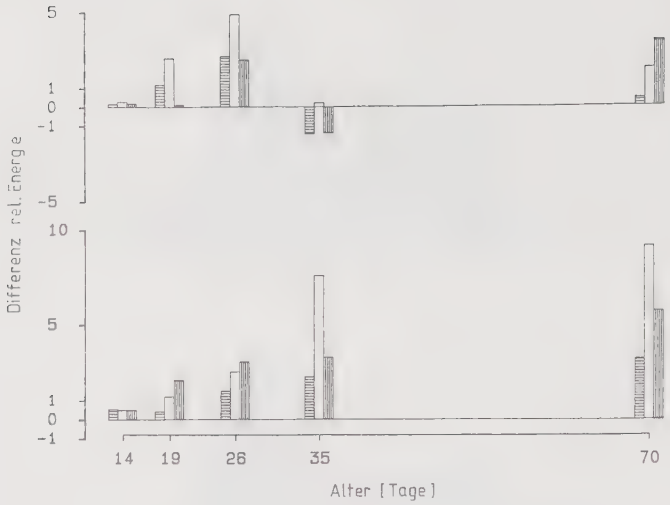


Abb. 4.9: Energiedifferenz zwischen den Spektren bei Stimulation und ohne olfaktorischen Reiz (positive Werte entsprechen einer Energiezunahme bei Reiz; Gruppenmittelwerte)

: Buttersäure

: Nestmaterial

: Geraniol

oben : Reihe K unten : Reihe E1

terial fast auf Null zurück, die Duftstoffe Buttersäure und Geraniol haben sogar einen suppressiven Einfluß auf die Gesamtaktivität. Ein derartiger Effekt tritt in Reihe E1 nicht auf; die Duftstoffe haben alle eine zunehmend aktivitätssteigernde Wirkung, wobei Nestmaterial in Gruppe 35 und 70 nahe-

zu eine Verdoppelung der neuronalen Aktivität bei Reiz bewirkt (vgl. Abb. 4.1).

Dieser Befund verdeutlicht, daß eine Bewertung der neuronalen Reizantworten auf zweierlei Weise erfolgen sollte: Zum einen können die reinen Frequenzveränderungen untersucht werden, wobei die Aktivitätsunterschiede unberücksichtigt bleiben, zum anderen können die Energieunterschiede zwischen den Spektren während - und ohne Reiz als Bestandteil der Reizantworten aufgefaßt - und in die Berechnung der Maßzahlen mit einbezogen werden.

4.1.4. Reizabhängige Änderungen des Gesamtspektrums

Das relative Verteilungsmaß (Abb. 4.10) analysiert zunächst reine Frequenzunterschiede im Bereich 15 Hz - 125 Hz. In Reihe K werden auf Nestmaterial stets höhere Reizantworten gemessen, als auf die beiden synthetischen Duftstoffe. Die Reaktionen auf Buttersäure erreichen etwa ab Tag 26 eine gleichbleibende Höhe und verändern sich bis Tag 70 kaum. Die Geraniol-Antworten sind anfangs nicht von den Reaktionen auf reine Luft zu unterscheiden, vergrößern sich aber leicht bis zum Tag 26 und bleiben ab der 5. Lebenswoche auf einem konstanten Niveau. Geraniol führt in allen Altersstadien der Reihe K zu den geringsten neuronalen Antworten. Es fällt auf, daß vor allem die Reaktionen auf Nest-Geruch während der ontogenetischen Entwicklung starke Veränderungen erfahren: Nach einem steilen Anstieg bis Tag 35 finden sich im Adult-Stadium Antworten, deren Ausmaß bereits am 19. Lebenstag erreicht wurde. Die gleichbleibende Höhe der Reizantworten auf die beiden anderen Duftstoffe besagt, daß der Umfang der durch einen Reiz veränderten Frequenzanteile -prozentual bezogen auf die Gesamtaktivität- praktisch ab der 3. Lebenswoche gleichbleibend ist.

Völlig anders ist das Verhalten bei den Tieren der Reihe

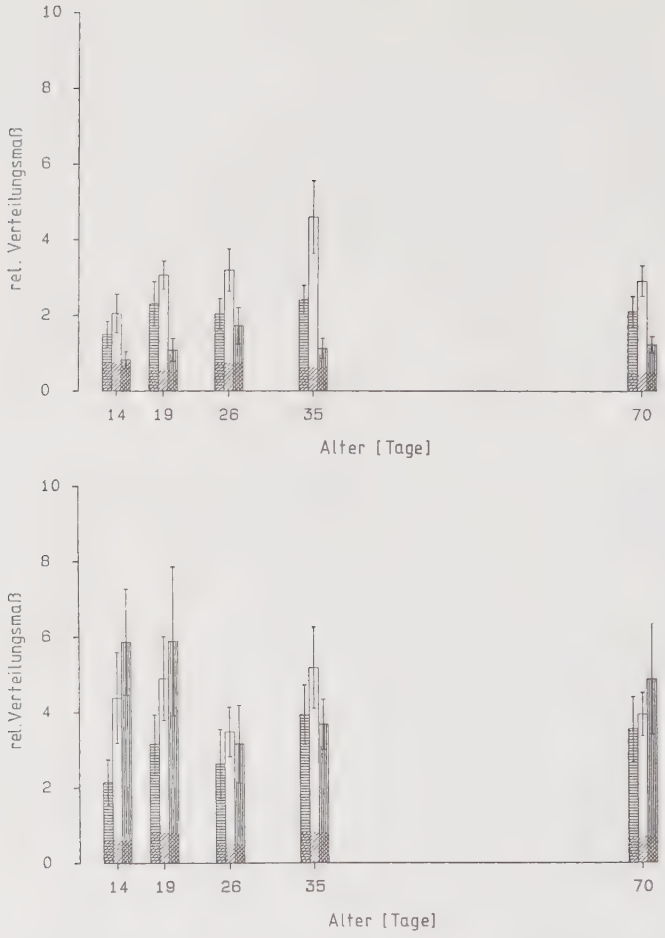


Abb. 4.10: Frequenzänderungen im Gesamtspektrum gemessen am relativen Verteilungsmaß (Gruppenmittelwerte ± $s(\bar{x})$)

: Luft v.(Kontrolle)
: Nestmaterial
oben : Reihe K

: Buttersäure
: Geraniol
unten : Reihe E1

E1. Die zunächst (Tag 14, 19) weit über den Nest-Reaktionen liegenden Geraniol-Antworten fallen am 26. Tag stark zurück, erreichen aber am 70. Lebenstag wieder eine größere Höhe als die Reizantworten auf Nestmaterial. Buttersäure hat -von leichten Schwankungen abgesehen- ab Tag 19 einen unverändert hohen Einfluß auf die spektrale Zusammensetzung der Summenpotentiale, der, mit Ausnahme von Tag 35, immer schwächer ist, als die neuronalen Antworten auf Nest-Geruch oder Geraniol. Ein Vergleich mit den Tieren der Reihe K zeigt, daß vor allem die Reaktionen auf Geraniol in Reihe E1 drastisch erhöht gegenüber den Kontrolltieren auftreten. Nestmaterial hat dagegen in Gruppe 26 und 35 fast identische - , in Gruppe 70 annähernd gleiche Reizantworten in beiden Reihen zur Folge. In den Altersstadien 14 und 19 dagegen liegen die Nest-Reaktionen in Reihe E1 weit über denen der Reihe K. Möglicherweise ist hier zu bedenken, daß Nestmaterial, nach 14 Tagen Bedampfung mit Geraniol, in den ersten Tagen danach den Geruch der immer noch mit Geraniol-Dampf behafteten Tiere annehmen kann. (Ein Artefakt, das sich methodisch kaum vermeiden läßt.)

Die Frequenzveränderungen, die bei Präsentation des Kontroll-Stimulus (Luft v.) auftreten, haben sowohl in den verschiedenen Altersstadien, als auch in den beiden Untersuchungsreihen das gleiche Ausmaß und bilden damit die der Messung zugrunde liegende Basislinie.

Die statistische Auswertung der Daten mit Hilfe der Friedman Rangvarianzanalyse und dem post hoc Verfahren von Wilcoxon und Wilcox ergibt folgendes Bild: In Reihe E1 wie in Reihe K treten bereits ab dem 14. Tag in den Reizantworten auf die verschiedenen olfaktorischen Stimulationen überzufällige Unterschiede auf (alle $x^2r \geq 9,0$; $p \leq 0,05$). Die Rangvarianzanalyse für den Individueneffekt zeigt in allen Altersgruppen beider Reihen mit $x^2r \leq 9,24$; $p > 0,05$ ein

weitgehend zufälliges Auftreten der individuellen Variabilität in den Reizantworten. Die Stichproben können bezüglich dieses Merkmals (V. rel) als homogen betrachtet werden. Legt man im d(i)-Test die Reaktionen auf reine Luft als Kontrollwert zugrunde (T(o)), so lassen sich in Reihe K ab Tag 19 alle Reaktionen auf den Nest-Stimulus statistisch gegen die Werte ohne olfaktorischen Reiz absichern (alle $d(i) \geq 14$; $p \leq 0{,}01$;). In Gruppe 14 erreichen die Geraniol-Reaktionen die niedrigste Rangsumme, wodurch der Wert für die Luft-"Reaktionen" entsprechend erhöht ist, eine Differenz zum Nest-Stimulus besteht daher -statistisch gesehen- nicht. Außer diesen Unterschieden können in Gruppe 35 und 70 zusätzlich die Antworten auf Buttersäure gegenüber Luft mit $d(i) = 11$; $p \leq 0{,}05$; (Tag 35) und $d(i) = 13$; $p \leq 0{,}01$ (Tag 70) abgesichert werden. In allen Altersstadien erreichen die Werte für den Geraniol-Stimulus keine signifikant höheren Rangsummen als die Kontrollwerte bei reiner Luft (alle $d(i) \leq 7$; $p > 0{,}05$;).

In Reihe E1 lassen sich anhand des d(i)-Tests folgende Zusammenhänge beschreiben: In allen Altersgruppen werden auf den Geraniol-Stimulus gesicherte Reizantworten gegenüber reiner Luft gemessen (alle $d(i) \geq 10$; $p \leq 0{,}05$), aber auch die beiden anderen Duftstoffe (BS. 10^{-2} Vol.% ; Nest) zeigen ab Tag 14 (Nest) bzw. Tag 26 (BS. 10^{-2}) signifikant höhere Rangsummen als der Kontrollwert (alle $d(i) \geq 10$; $p \leq 0{,}05$).

Der Vergleich beider Untersuchungsreihen zeigt, daß in Reihe E1 bereits ab Tag 14 die Reaktionen auf Geraniol ebenso sicher gegenüber Luft abgegrenzt werden können, wie in Reihe K die Antworten auf das Nestmaterial am Tag 19.

In einer weiteren Auswertung sollen die bereits beschriebenen Energieunterschiede, die einerseits bei Tieren

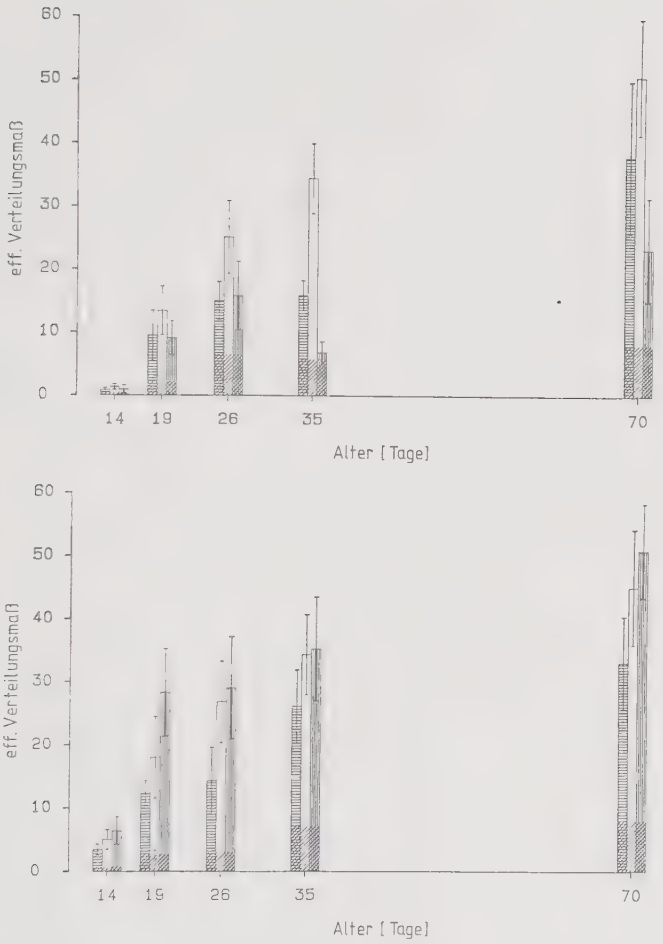


Abb. 4.11: Energie- und Frequenzänderungen im Gesamtspektrum gemessen am effektiven Verteilungsmaß (Gruppenmittelwerte ± $s(\bar{x})$)

: Luft v.(Kontrolle)
: Buttersäure
: Nestmaterial
: Geraniol
oben : Reihe K
unten: Reihe E1

in den verschiedenen Entwicklungsstadien auftreten (Abb. 4.1), andererseits zwischen dem stimulierten - und dem unstimulierten Zustand (Abb. 4.9) bestehen, berücksichtigt werden. Das effektive Verteilungsmaß, zu dessen Berechnung die normierten Energiewerte der einzelnen Frequenzintervalle herangezogen werden, variiert in Abhängigkeit vom Ausmaß der Frequenzverschiebung bei Reiz, von der Höhe der mittleren neuronalen Gesamtaktivität und von der absoluten Energiedifferenz ΔE zwischen den beiden Spektren.

In Abb. 4.11 sind die Gruppenmittelwerte des effektiven Verteilungsmaßes für beide Reihen dargestellt. Der insgesamt ansteigende Trend der Maßzahlen mit fortschreitendem Alter der Tiere ist offenbar mit der Zunahme der neuronalen Gesamtaktivität korreliert (vgl. Abb. 4.1). An dieser Darstellung wird aber verdeutlicht, daß insbesondere die Entwicklung der Reizantworten auf Nestmaterial -berücksichtigt man das neuronale Gesamtverhalten- in beiden Reihen nahezu deckungsgleich verläuft. Auch die Gesamtreaktionen auf Buttersäure sind, mit Ausnahme von Tag 35 und dem leicht erhöhten Wert in Gruppe 14 der Reihe E1, weitgehend vergleichbar. Die Unterschiede, die zwischen Reihe E1 und K für diese Duftqualitäten am relativen Verteilungsmaß (Abb. 4.10) beschrieben wurden, werden hier durch eine in beiden Reihen unterschiedliche Gewichtung von Frequenzänderungen und Aktivitätsänderungen nivelliert. Unverändert ist allerdings die Höhe der neuronalen Gesamtreaktionen auf den Geraniol-Stimulus. In Reihe E1 liegen die Werte konstant über denen des Nestmaterials und sind so mit Abstand höher als die Reaktionen der Kontroll-Tiere, bei denen in allen Altersgruppen das Nestmaterial die stärksten Veränderungen in den abgeleiteten Summenpotentialen hervorruft. An den Kontroll-Stimulationen mit reiner Luft kann abgelesen werden, daß die Gesamtvariabilität in den

Spektren zwar zunimmt, jedoch ist der Anstieg nicht proportional zur Höhe der gemessenen Reizantworten. Der multiplikative Einfluß der neuronalen Aktivität auf die Grösse der Maßzahl (V. eff) überwiegt also nicht das Maß der neuronalen Antworten auf einen olfaktorischen Reiz.

Da das effektive Verteilungsmaß auch ein unterschiedliches Reiz-Antwortverhalten berücksichtigt (Frequenzverschiebung vs. Aktivitätsänderung) erscheint ein statistischer Vergleich der beiden Untersuchungsreihen sinnvoll. Die Reizantworten auf die verschiedenen Dufstoffe wurden für jede Altersgruppe einzeln dem verteilungsfreien U-Test unterworfen.

Außer in Gruppe 14 ($U = 5$; $p < 0,05$) lassen sich bei Stimulation mit Nestmaterial in keiner Altersgruppe gesicherte Unterschiede in den Reizantworten aufdecken (übrige $U \geq 13$; $p > 0,05$). Auch Buttersäure zeigt nur in einer Gruppe (Reihe K, Tag 35: $U = 7$; $p = 0,05$) einen statistischen Unterschied in der Reizantwort (übrige $U \geq 8$; $p > 0,05$). Für die Geraniol-Reaktionen lassen sich dagegen in den Altersgruppen 14, 19, 35 und 70 deutliche Differenzen im Antwortverhalten feststellen (alle $U \leq 7$; $p \leq 0,05$), die ausnahmslos durch höhere Werte in der Reihe E1 hervorgerufen werden (siehe Abb. 4.11).

Dieses Ergebnis wird noch durch die Auswertung der Daten des relativen Verteilungsmaßes unterstützt. Auch dort können anhand des U-Tests in den Gruppen 14, 19, 35 und 70 hochsignifikante Unterschiede in den Geraniol-Antworten gefunden werden (alle $U \leq 4$; $p \leq 0,01$). Der zweiseitig durchgeführte U-Test bestätigt, daß alle Werte für die Reizantworten auf Geraniol in Reihe E1 über den Werten der Reihe K loziert sind ($p \leq 0,05$; zweiseitiger Test).

Zusammenfassend kann festgestellt werden, daß in den Antworten auf die Duftstoffe Buttersäure und Nestmaterial in

Reihe E1 und K nur geringfügige Abweichungen gefunden werden. Besonders die Entwicklung der olfaktorischen Reiz-Antworten auf Nestmaterial ist, gemessen an der neuronalen Gesamtreaktion, in beiden Reihen beinahe identisch. Die an den Summenpotentialen des Bulbus olfactorius meßbaren Reaktionen auf den Geraniol-Stimulus sind in Reihe E1 sofort nach der 13-tägigen Bedampfung stark erhöht gegenüber den Kontroll-Tieren. Im Alter von 26 Tagen verringert sich diese Differenz dann besondrs in Bezug auf die Frequenzänderungen im Bereich 15-125 Hz; die neuronalen Gesamtreaktionen (V. eff) sind dagegen noch immer stärker ausgeprägt, als in Reihe K. Ab der 5. Lebenswoche, bis hin zum Adultstadium wird schliesslich der Geraniol-Stimulus in Reihe E1 wieder sehr viel stärker als in Reihe K beantwortet.

4.1.5. Reizantworten gemessen am höherfrequenten Spektrum

Die Analysen der Bulbus-Potentiale mit Hilfe der rein arithmetischen Verteilungsmaße (V. rel.; V. eff.) zeigten, daß die neuronalen Antworten aus den zwei Komponenten: Veränderungen der Aktivität und Frequenzverschiebungen zusammengesetzt sind. Nur wenig Auskunft kann aber darüber gewonnen werden, welche Frequenzbereiche eine Umformung erfahren haben, und wodurch sich die Spektren bei Stimulation von denen des ungereizten Zustands unterscheiden. Die Darstellungsform der Abb. 4.4 - 4.8 kann zwar gute Anhaltspunkte geben, dabei wird der optische Eindruck aber vor allem durch die Aktivitäts(Flächen)-Unterschiede zwischen beiden Spektren geleitet. Auch ist die aufwendige graphische Form nicht für eine rasche Auswertung von Einzeltier-Ergebnissen geeignet.

In Abschnitt 3.2. wurde ein Verfahren zur Analyse von Frequenzverschiebungen vorgestellt, das selektiv auf bestimmte Abschnitte der Spektren angewendet werden kann und zudem eine schnelle, übersichtliche Darstellung der Verhältnisse

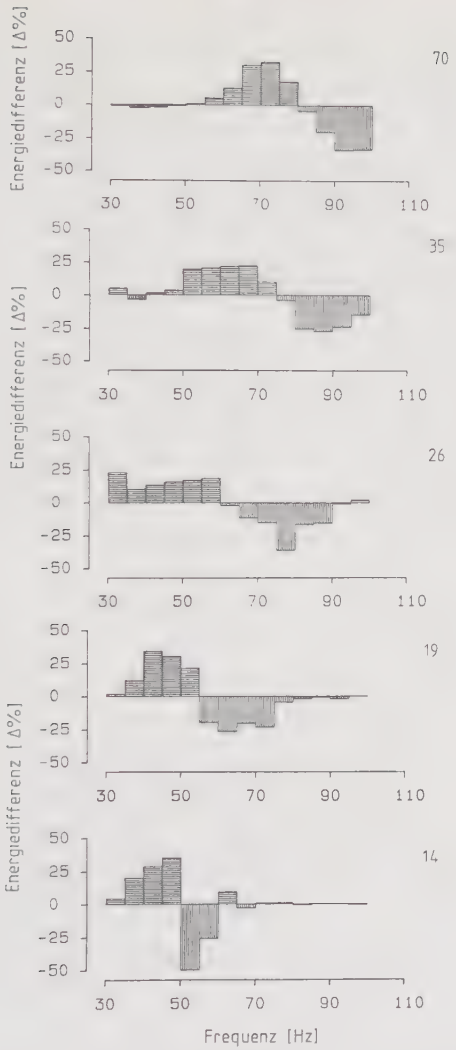


Abb. 4.12: Frequenzverschiebungen im Bereich der Oszillationen (30 - 100 Hz);(Einzeltiere, Reihe E1) olfaktorischer Stimulus : Geraniol

: dominierender Frequenzbereich bei Reiz

: dominierender Frequenzbereich ohne Reiz

(Energiedifferenzen in Prozent/5Hz; Gesamtverschiebung = 100 %).

bei - und ohne Reiz ermöglicht (Abb. 3.1; Nr. 6). Ein weiterer Vorteil dieser Methode besteht in der zusätzlichen Berechnung von Verhältniszahlen für jedes einzelne Frequenzintervall, die zusammengenommen Informationen über das Frequenzgeschehen in den Bulbus-Potentialen bei einem olfaktorischen Reiz geben. Die Summe aller Verhälniszahlen (Inkongruenzmaß) ist wiederum ein Maß für die Frequenzverschiebungen im gewählten Bereich. Der Frequenzabschnitt von 30-100 Hz wurde vorgegeben, um den Einfluß der Duftreize auf die Oszillationen präzisieren zu können. Die z.T. sehr stark ins Gewicht fallenden niederfrequenten Anteile (< 30 Hz) sowie der Bereich > 100 Hz wurde in die Berechnungen nicht mit einbezogen. Der prozentuale Anteil der Energie dieses Intervalls an der Gesamtenergie (15-125 Hz) kann der Abb. 4.3 entnommen werden.

In Abb. 4.12 sind die Einzelergebnisse von 5 Versuchstieren der Reihe E1 vorgestellt; die Stimulation erfolgte mit Geraniol 10^{-2} Vol.%. Ohne weiteres läßt sich erkennen, daß mit fortschreitendem Alter der Tiere, parallel zur Ausbildung der Oszillationen, zunehmend hochfrequente Anteile des Spektrums durch einen Duftreiz beeinflußt werden. Während beim 14 Tage alten Tier Frequenzen über 70 Hz nicht beteiligt sind, werden beim adulten Tier die Frequenzen von 30 - 60 Hz kaum von einer Veränderung betroffen. Auch ist klar zu sehen, daß immer eine Verschiebung in den niederfrequenten Bereich stattfindet. In den abgebildeten Beispielen beträgt die Frequenzverlagerung (Abstand: negatives - zu positives max.Intervall) ab Tag 19 jeweils 20 Hz (Tag 14: 5 Hz). Die maximalen Energiedifferenzen in den einzelnen 5-Hz Intervallen liegen zwischen 22,4% (Tag 35: 65-70 Hz) und 68,9% (Tag 14: 50-55 Hz). Prozentual bezogen auf die Gesamtaktivität dieses Frequenzbereiches (30-100 Hz) nimmt der Energieanteil der, durch einen Reiz veränderten Frequenzen

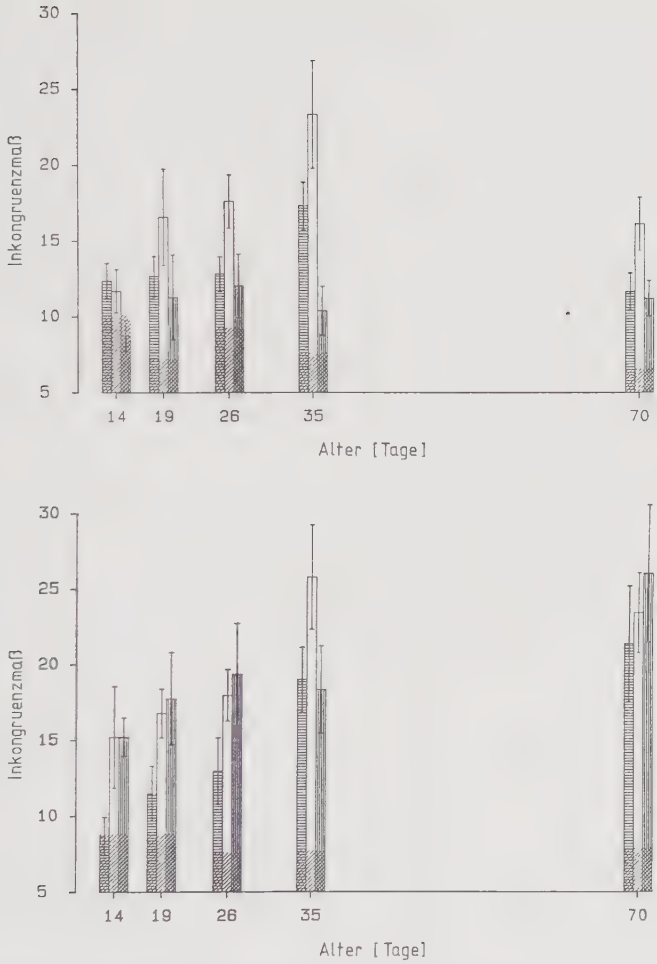


Abb. 4.13: Stärke der Frequenzverschiebung im Oszillationsbereich gemessen am Inkongruenzmaß (Gruppenmittelwerte ± $s(\bar{x})$)

: Luft v.(Kontrolle) : Buttersäure

: Nestmaterial : Geraniol

oben : Reihe K unten : Reihe E1

mit dem Alter der Versuchstiere zu. Aus den Daten der Abb. 4.12 können für das Inkongruenzmaß Werte zwischen 12,6% (Tag 14) und 44,1% (Tag 70) ermittelt werden, was grob gerechnet bedeutet, daß bei einem 14 Tage alten Tier nur ein Zehntel der neuronalen Aktivität durch einen Stimulus beeinflußt wird, wogegen bei einem adulten Tier fast die Hälfte der Energie in den Power-Spektren durch einen Duftreiz auf andere -niedrigere- Frequenzbereiche verlagert wird.

Die Mittelwerte dieses Inkongruenzmaßes sind in Abb. 4.13 für alle Altersgruppen und für die verschiedenen Substanzen aufgetragen. In Reihe K zeigt das Ausmaß der Frequenzverschiebungen bei Stimulation mit Nestmaterial eine ansteigende Tendenz bis zur 5. Lebenswoche. Bis auf Tag 14 werden durch diesen Duftreiz die stärksten Veränderungen im Oszillationsbereich erzielt. Fast konstant sind die Reaktionen, die auf Buttersäure gemessen wurden, jedoch sind wieder in Gruppe 35 die höchsten Werte zu verzeichnen. Die Geraniol-Antworten durchlaufen am Tag 26 ein Maximum; sie stellen in Reihe K aber in allen Altersstadien die schwächsten Reaktionen dar.

Das Ausmaß der neuronalen Antworten auf Nestmaterial ist in Reihe E1 ebenfalls durch einen Anstieg bis zum Tag 35 gekennzeichnet. In Anbetracht der individuellen Streuungsbreite sind die Reizantworten aber als gleich hoch, wie in den entsprechenden Altersstadien der Reihe K aufzufassen. Anders als bei den Kontrollen steigern sich hier die Reaktionen auf den Buttersäure-Stimulus bis zur 5. Lebenswoche und erreichen erst im Adultstadium die höchsten Werte. Der Einfluß des Geraniol-Reizes auf die Oszillationsfrequenzen kann in den Gruppen 19, 26 und 70 als leicht erhöht gegenüber Nestmaterial, jedoch deutlich stärker als auf Buttersäure beschrieben werden. Am Tag 14 zeigen die Antworten auf Nestmaterial und Geraniol gleich hohe Mittelwerte, diese sind aber erheblich

größer als der Meßwert bei Buttersäure. In Gruppe 35 werden intensive Reizantworten durch das Nestmaterial ausgelöst, während auf die beiden anderen Substanzen etwa gleiche Antwortstärken gemessen wurden.

Im Vergleich beider Untersuchungsreihen fällt vor allem die Diskrepanz in den Reaktionen auf den Geraniol-Stimulus auf. Alle Mittelwerte sind in Reihe E1 annähernd doppelt so hoch (Faktoren: 1,7; 1,6; 1,6; 1,8; 2,3), wie in der Reihe der Kontroll-Tiere; die Differenzen können statistisch auf dem 5% Niveau gesichert werden (U-Test: alle $U \leq 7$). Außer diesen Unterschieden können noch Abweichungen in den Antworten auf Buttersäure am Tag 14 und Tag 70 ermittelt werden (beide $U = 6$; $p \leq 0,05$). In den Reaktionen auf Nestmaterial sind dagegen in keiner Altersgruppe Lokationsunterschiede zwischen den Medianen festzustellen (alle $U \geq 8$; $p > 0,05$). In Anwendung der Friedman Rangvarianzanalyse lassen sich für die einzelnen Altersstadien beider Reihen folgende Zusammenhänge darlegen: Mit einer Ausnahme (Reihe K: Tag 14; $x^2r = 2,4$; $p > 0,05$) sind sowohl in Reihe K als auch in Reihe E1 die divergierenden neuronalen Antworten auf die verschiedenen Duft-Präsentationen nicht zufällig (alle $x^2r \geq 10,2$; $p < 0,05$). Gegenüber dem Kontroll-Stimulus (Luft v.) lassen sich in Reihe K anhand des d(i) Tests vor allem die Mediane der Nest-Antworten (Tag 19, 26, 35, 70); am Tag 19 und 35 auch diejenigen auf Buttersäure, signifikant abgrenzen (alle $d(i) \geq 10$; $p \leq 0,05$). In Reihe E1 führen entweder alle drei Duftstimulationen (Tag 35) oder Geraniol und Nestmaterial (Tag 19, 26, 70), zumindest aber der Geraniol-Reiz (Tag 14) zu gesichert höheren Werten des Inkongruenzmaßes (alle $d(i) \geq 10$; $p \leq 0,05$).

Einen weiteren Aspekt der neuronalen Vorgänge in Frequenzbereich der Oszillationen bei Präsentation der verschiedenen Substanzen vermittelt der L-Test von Page (siehe Abschnitt

3.3.). Ordnet man die bisher an den drei Parametern (V. rel., V. eff., Inkongruenzmaß) gemessenen Antwortstärken in jeder Altersgruppe der Größe nach, so kann in Reihe K am häufigsten (in 12 von 15 Fällen) folgender Trend beobachtet werden: 1. (geringste Reaktionen) bei Luft v.; 2. (schwache Reaktionen) bei Geraniol-Reiz; 3. (starke Antworten) bei Buttersäure; 4. (stärkste Antworten) bei Stimulation mit Nestmaterial. In Reihe E1 läßt sich dagegen in der Mehrzahl der Fälle (11 von 15) die Reihenfolge als: 1. Luft v.; 2. Buttersäure; 3. Nestmaterial; 4. Geraniol ermitteln (vgl. Abb. 4.11).

Die im L-Test zu formulierende Trend-Alternativhypothese stützte sich auf diese Beobachtungen und wurde der Nullhypothese ("Alle Reizantworten sind gleich stark") gegenübergestellt. Gemessen an den Rangsummen des Inkongruenzmaßes kann in den Gruppen 19, 26, 35 und 70 in Reihe K die Trend-Alternativhypothese (Antwortstärken: Luft < Geraniol < Buttersäure < Nestmaterial) mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 1% angenommen werden. In Reihe E1 läßt sich dagegen in allen Gruppen die Trendhypothese (Antwortstärke: Luft < Buttersäure < Nestmaterial < Geraniol) verifizieren ($p \leq 0{,}01$). Die gleiche Beziehung läßt sich auch für den Parameter V.eff darstellen (Tab. 4.4).

Somit kann festgestellt werden, daß, verglichen mit den Kontroll-Tieren, die Antwortstärke auf den Geraniol-Stimulus von der schwächsten Position nach reiner Luft auf die höchste Position noch vor dem Nestmaterial (Reihe E1) gewechselt hat.

Zusammenfassend sind in Abb. 4.14 die Parameterdifferenzen (Mediane; Δ %) zwischen Reihe E1 und K abgebildet. Die größten Unterschiede wurden mit allen drei Analysemethoden i.A. in den Reizantworten auf den Geraniol-Stimulus gemessen. Die Lokationsunterschiede zwischen den Medianen sind fast alle statistisch auf dem 5% Niveau gesichert (U-Test). Dem-

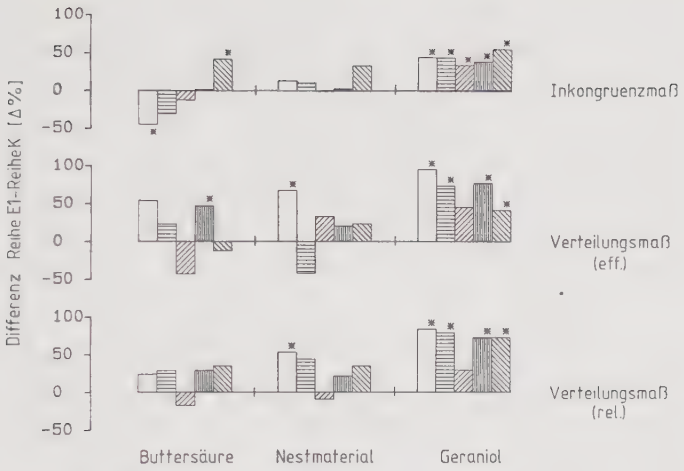


Abb. 4.14: Differenz in der Stärke der neuronalen Reizantwort (zwischen Reihe E1 und K)

○ : 14. Tag ≡ : 19. Tag ▨ : 26. Tag

▥ : 35. Tag ▩ : 70. Tag (adult)

* : Statistisch gesicherte Unterschiede (U-Test; $p \leq 0{,}05$)

Positive Werte = stärkere Antworten in Reihe E1

gegenüber treten bei Stimulation mit Buttersäure oder Nestmaterial zwischen beiden Reihen nur sehr vereinzelt gesicherte Abweichungen auf; die übrigen Differenzen erscheinen eher zufällig.

4.1.6. Statistische Ergebnisse

In den nachfolgenden Tabellen sind die wichtigsten statistischen Ergebnisse aus Experiment 1 und Experiment 2 zusammengestellt.

Tab.4.1 zeigt die in der Friedman Rangvarianzanalyse ermittelten x^2r-Werte aller Altersgruppen der Reihen K, E1, E2a, und E2b. Als Parameter wurden eingesetzt: das effektive Verteilungsmaß und das Inkongruenzmaß. Die Nullhypothese lautete: Die Meßwerte der Reizantworten auf die verschiedenen Duftstoffe (einschl. Luft) unterscheiden sich in einer Altersgruppe nur zufällig. Bei den markierten Testwerten wurde die Nullhypothese abgelehnt (* = $p \leq 0,05$; ** = $p \leq 0,01$; *** = $p \leq 0,001$).

In den Tab. 4.2 - 4.5 werden die Ergebnisse des d(i)-Tests von Wilcoxon und Wilcox für die Reihen K (Tab.4.2), E1 (Tab. 4.3), E2a (Tab.4.4) und E2b (Tab.4.5) aufgeführt. Parameter sind das effektive Verteilungsmaß und das Inkongruenzmaß. Geprüft wurde in den einzelnen Altersgruppen, welche der drei Duftsubstanzen gegenüber reiner Luft (Kontrolle) signifikant höhere Meßwerte erreichte. Angegeben sind die Testwerte für Nestmaterial und Geraniol (GE 10^{-2}).

Tab.4.6 stellt für alle Altersgruppen die L-Werte der Trendanalyse von Page für die Reihen K, E1, E2a und E2b zusammen. Für die Kontrolltiere (Reihe K) wurde die Hypothese K, für alle duftexponierten Tiere (Reihen E1, E2a, E2b) die Hypothese E aufgestellt und geprüft. Bei den markierten Werten wurde die jeweilige Trendhypothese angenommen (* = $p \leq 0,05$; ** = $p \leq 0,01$).

Tab.:4.1 Friedman Rangvarianzanalyse (zw.d.Substanzen)

Alter:	14	19	26	35	70	Reihe K
x^2r =	5.4	13.0**	8.0*	9.8*	15.0**	V. eff.
x^2r =	2.4	11.6**	9.5*	12.6**	16.4***	Inkon.M.
Alter:	14	19	26	35	70	Reihe E1
x^2r =	12.2**	9.8*	15.0**	8.6*	11.6**	V. eff.
x^2r =	10.2*	11.8**	10.6*	11.4**	12.2**	Inkon.M.
Alter:	14	19	26	35	70	Reihe E2a
x^2r =	8.6*			13.2**		V. eff.
x^2r =	7.8			12.6**		Inkon.M.
Alter:	14	19	26	35	70	Reihe E2b
x^2r =	17.0***			13.8**		V. eff.
x^2r =	11.4**			13.4**		Inkon.M.

Tab.:4.2 d(i)-Test v. Wilcoxon und Wilcox (gegen Luft)

Verteilungsmaß (eff.)						Reihe K
Alter:	14	19	26	35	70	Substanz
d(i)=	9	16**	12**	13**	16**	Nest
d(i)=	1	7	4	2	7	GE 10^{-2}
Inkongruenzmaß						Reihe K
Alter:	14	19	26	35	70	Substanz
d(i)=	2	14**	11*	15*	18**	Nest
d(i)=	-4	4	3	6	10*	GE 10^{-2}

Tab.:4.3 d(i)-Test v. Wilcoxon und Wilcox (gegen Luft)

Verteilungsmaß (eff.)						Reihe E1
Alter:	14	19	26	35	70	Substanz
d(i)=	11*	11*	16**	11*	12**	Nest
d(i)=	15**	13**	13**	11*	14**	GE 10^{-2}
Inkongruenzmaß						Reihe E1
Alter:	14	19	26	35	70	Substanz
d(i)=	9	15**	13**	14**	13**	Nest
d(i)=	11*	10*	12*	11*	14**	GE 10^{-2}

Tab.:4.4 d(i)-Test v. Wilcoxon und Wilcox (gegen Luft)

Verteilungsmaß (eff.)						Reihe E2a
Alter:	14	19	26	35	70	Substanz
d(i)=	8			14**		Nest
d(i)=	-5			0		GE 10^{-2}
Inkongruenzmaß						Reihe E2a
Alter:	14	19	26	35	70	Substanz
d(i)=	3			12**		Nest
d(i)=	2			-3		GE 10^{-2}

Tab.:4.5 d(i)-Test v. Wilcoxon und Wilcox (gegen Luft)

Verteilungsmaß (eff.)						Reihe E2b
Alter:	14	19	26	35	70	Substanz
d(i)=	11*			10*		Nest
d(i)=	17**			15**		GE 10^{-2}

Inkongruenzmaß						Reihe E2b
Alter:	14	19	26	35	70	Substanz
d(i)=	3			9*		Nest
d(i)=	14**			14**		GE 10^{-2}

Tab.:4.6 L - Test von Page (Trendanalyse)

Alter:	14	19	26	35	70	Reihe K
L =	94	175**	170**	171**	177**	V. eff.
L =	156	174**	168**	175**	176**	Inkon.M.
Alter:	14	19	26	35	70	Reihe E1
L =	173**	171**	174**	167*	172**	V. eff.
L =	171**	169**	170**	168**	173**	Inkon.M.
Alter:	14	19	26	35	70	Reihe E2a
L =	165			174**		V. eff.
L =	151			171**		Inkon.M.
Alter:	14	19	26	35	70	Reihe E2b
L =	179**			176**		V. eff.
L =	171**			175**		Inkon.M.

Hypothese K : Antwortstärke : Luft < GE < BS < Nest

Hypothese E : Antwortstärke : Luft < BS < Nest < GE

4.2. Experiment 2

4.2.1. Beschreibung des 2. Experiments

Da bei Labormäusen offenbar eine von Geburt an währende, 13-tägige Geruchsbelastung mit einer einzelnen Duftsubstanz zu veränderten neuronalen Antworten auf den selben Duftstoff in späteren Entwicklungsstadien führt, stellte sich die Frage, ob diese relativ lange Zeitspanne der Bedampfung notwendig ist, oder ob bereits eine geringere Dauer zu einem vergleichbaren Effekt führen könnte. Außerdem sollte der Zeitpunkt einer möglichen olfaktorisch "sensiblen Phase", wie sie z.B. für die Stachelmaus (Acomys cahirinus: Porter und Etscorn, 1974; 1976), oder für Ratten bzw. Goldhamster (Cornwell-Jones, 1979) beschrieben wurde, eingeengt werden.

Zu diesem Zweck wurden in einem weiteren Experiment (2) die neugeborenen Jungtiere weißer Labormäuse entweder von Geburt an 7 Tage (Tag: 0-6; Reihe: E2a), oder vom 6. Lebenstag an bis Tag 12 (Tag: 6-12; Reihe: E2b) dem Duft der Reinsubstanz Geraniol ausgesetzt. Die Aufzuchtbedingungen entsprachen im übrigen genau denen, die in Kap. 2 beschrieben sind. Um evtl. einen nur kurzfristig wirkenden Einfluß der Duftexposition auf das neuronale Antwortverhalten des Bulbus olfactorius erfassen zu können, wurden die Tiere beider Reihen im Alter von 14 Tagen, also 8 bzw. 2 Tage nach dem Ende der Bedampfung den elektrophysiologischen Messungen unterzogen. Der Langzeiteffekt der Duftbelastung wurde am 35. Lebenstag untersucht. (Im Experiment 1 zeigten die Versuchstiere der Reihe E1 gegenüber den Kontrollen am Tag 35 signifikant unterschiedliche Reizantworten auf den Geraniol-Stimulus.) Auswahl der Tiere, Operation, Duftapplikation und Versuchsablauf sind unverändert wie in Experiment 1 durchgeführt worden. Als Kontrollen dienten die Versuchstiere der entsprechenden Altersgruppen (14, 35) aus Experiment 1.

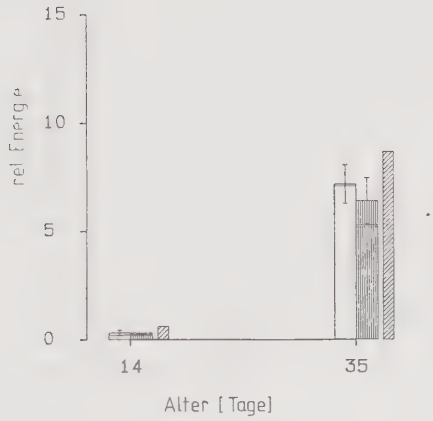


Abb. 4.15: Neuronale Gesamtenergie ohne olfaktorischen Reiz ermittelt durch Integration der Power-Spektren.
(Arithmetische Mittelwerte ± $s(\bar{x})$)
○ : Reihe E2a (Luft v.) ||| : Reihe E2b (Luft v.)
/// : Reihe K (Luft v.) Experiment 1
Ordinate: Energiedichte pro 4 s.
Horizontale Doppellinien markieren die mittlere Gesamtenergie am Ende des Versuches (Luft n.)

Das mittlere Gewicht der Jungtiere am jeweiligen Versuchstag ist in Abb. 2.2 wiedergegeben: Die Werte liegen geringfügig unter denen der Kontrolltiere, bedeutende Unterschiede sind aber nicht festzustellen.

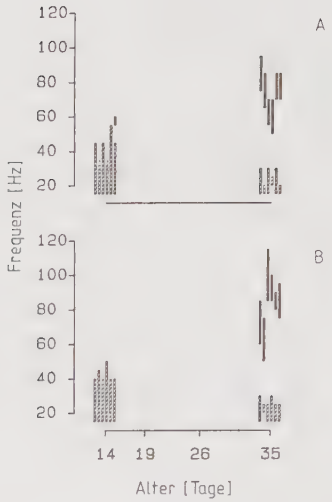


Abb. 4.16: Frequenzzusammensetzung der der Bulbus-Potentiale (Einzelergebnisse)

: Prominenter niederfrequenter Teil des Spektrums

: Prominenter hochfrequenter Anteil (Bereich der Oszillationsfrequenzen)

A : Reihe E2a B : Reihe E2b

4.2.2. Aktivitäts- und Frequenzentwicklung

In Abb. 4.15 ist die mittlere neuronale Gesamtaktivität (gemessen an der Energiedichte der Powerspektren im Bereich 15-125 Hz) für die einzelnen Gruppen aufgetragen und den Kontrollen (Reihe K) gegenübergestellt. Die neuronale Aktivität der Versuchstiere aus dem 2. Experiment ist insgesamt etwas geringer als in Reihe K; die Werte der Reihe E2a sind beidemal größer als diejenigen der später bedampften Tiere

(E2b), jedoch sind alle Unterschiede statistisch nicht signifikant (U-Test: p > 0,05).

Auch die Zunahme hochfrequenter Anteile in den abgeleiteten Summenpotentialen (Abb. 4.16) entspricht weitgehend den im Experiment 1 dargestellten Ergebnissen (Abb. 4.2), sie lassen weder im Vergleich zu den Kontrollen, noch gegenüber Reihe E1 auffällige Unterschiede erkennen.

4.2.3. Olfaktorische Reizantworten

Zunächst soll, wie auch in Experiment 1, der Einfluß olfaktorischer Stimuli auf des Gesamtspektrum der neuronalen Vorgänge im Bulbus olfactorius untersucht werden. An relativen Verteilungsmaß (prozentuale Bewertung der Differenzen zwischen den Spektren während - und ohne Reiz; Abb. 4.17) fallen sofort die in beiden Reihen stark unterschiedlichen Antworten auf den Geraniol-Duft sowohl in Gruppe 14 als auch in Gruppe 35 auf. Nestmaterial führt in der Reihe der früher bedampften Tiere (E2a) eindeutig zu den höchsten Werten für V. rel.. Fast gleich hohe Werte wie in Reihe E2a können für Nestmaterial auch in Reihe E2b ermittelt werden, jedoch liegen diese erheblich unter denen, die bei Stimulation mit Geraniol gemessen werden konnten.

Die energiebezogene Auswertung des Verteilungsmaßes (V. eff.; Abb 4.18) zeigt bei den Altersgruppen 35 praktisch unveränderte Verhältnisse in den Reizantworten. Daraus kann geschlossen werden, daß nur geringe Abweichungen in der Gesamtenergie bei - und ohne Stimulation, aber auch zwischen beiden Untersuchungsreihen auftraten. Relativiert wird hingegen das Ausmaß der neuronalen Antworten in den Gruppen der 14 Tage alten Tiere. Die im Verhältnis nur schwache neuronale Aktivität läßt eine Differenzierung der einzelnen Reizantworten auf die verschiedenen Duftstoffe kaum zu.

In der statistischen Auswertung (Friedman Rangvarianza-

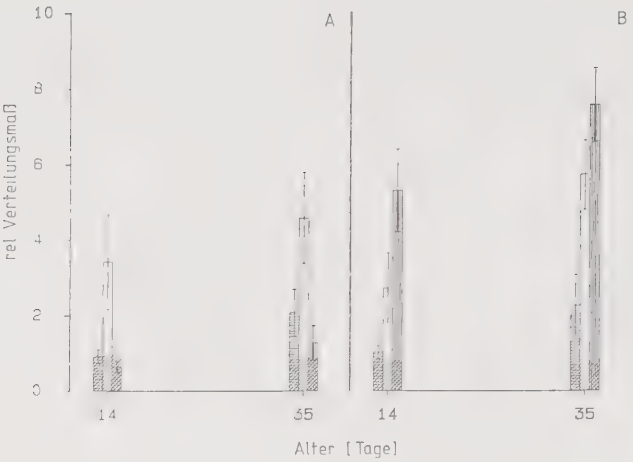


Abb. 4.17: Frequenzänderungen im Gesamtspektrum gemessen am relativen Verteilungsmaß
(Gruppenmittelwerte ± $s(\bar{x})$)

: Luft v. (Kontrolle) : Buttersäure
: Nestmaterial : Geraniol
A : Reihe E2a B : Reihe E2b

nalyse) wird dieser "optisch" gewonnene Eindruck weiter erhärtet: Bei einem stets nicht signifikanten Individueneffekt (alle $p >> 0,05$) lassen sich in Reihe E2a und E2b bereits ab dem 14. Lebenstag, gemessen am V. rel., gesicherte Unterschiede in den neuronalen Antworten nachweisen (E2a Tag 14: $x^2r = 8,6$; $p < 0,05$; übrige $x^2r \geq 13,2$; $p \leq 0,01$). Der d(i)-Test zeichnet in Reihe E2a am Tag 35 vor allem die Reaktionen auf den Nest-Stimulus als statistisch be-

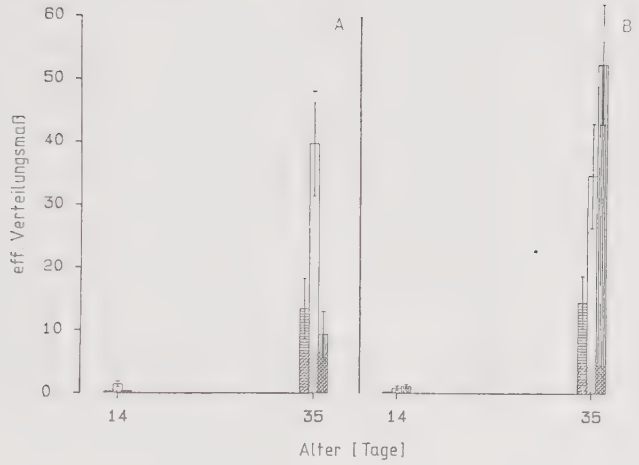


Abb. 4.18: Energie und Frequenzänderungen im Gesamtspektrum gemessen am effektiven Verteilungsmaß
(Gruppenmittelwerte ± s($\bar{x}$))

: Luft v. (Kontrolle) : Buttersäure
: Nestmaterial : Geraniol
A : Reihe E2a B : Reihe E2b

deutsam gegenüber reiner Luft (Kontrolle; T(o)) aus (d(i) = 14; $p \leq 0{,}01$). In der Reihe der später bedampften Tiere (E2b) führen dagegen bereits ab Tag 14 sowohl Nestmaterial als auch Geraniol zu statistisch gesichert höheren Werten als bei Präsentation des Kontroll-Stimulus auftraten (alle d(i) ≥ 10; $p \leq 0{,}05$). Vergleichbare Ergebnisse liegen auch für den Parameter V. eff. vor, allerdings lassen sich hier in Reihe E2a, Tag 14 die Reaktionen auf die verschiedenen Duft-

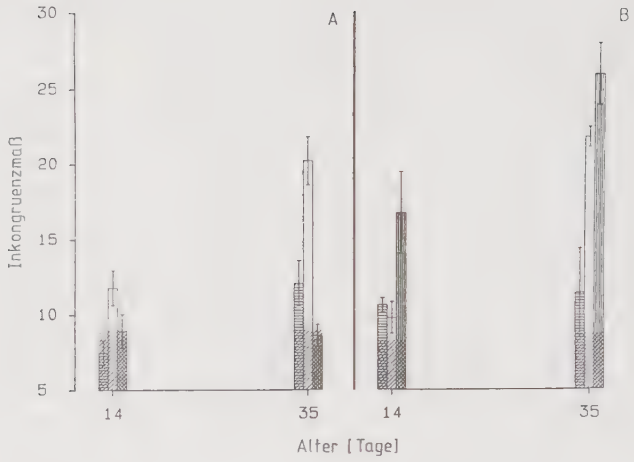


Abb. 4.19: Stärke der Frequenzverschiebungen im Oszillationsfrequenzbereich gemessen am Inkongruenzmaß (Gruppenmittelwerte ± $s(\bar{x})$)

: Luft v. (Kontrolle) : Buttersäure

: Nestmaterial : Geraniol

A : Reihe E2a B : Reihe E2b

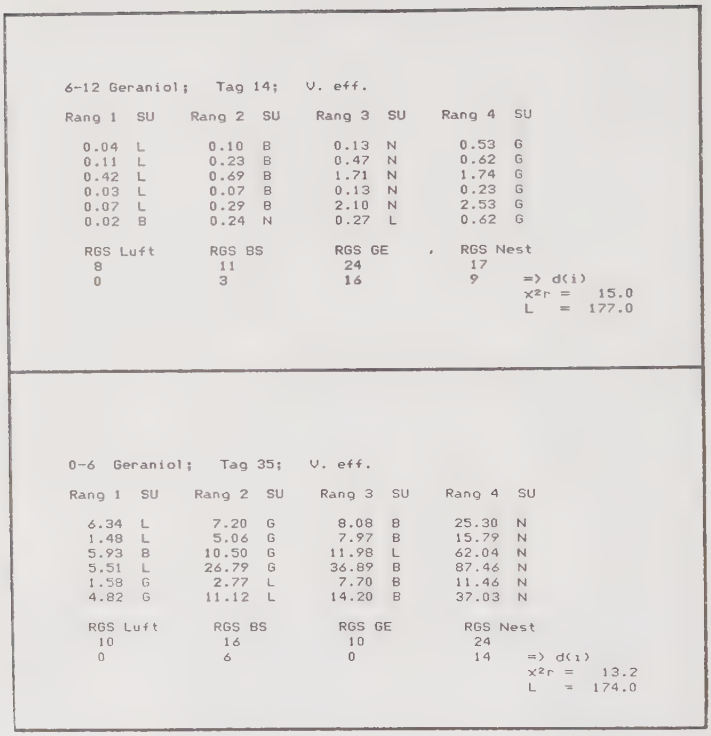
stoffe statistisch nicht gegeneinander abgrenzen ($x^2r = 2,6$; $p > 0,05$). Zwischen den übrigen Medianen sind signifikante Lokationsunterschiede nachweisbar (alle $x^2r \geq 13,2$; $p \leq 0,01$; siehe auch Tab. 4.1-4.6).

Die Veränderungen in den Oszillationsfrequenzen als Antworten auf einen olfaktorischen Reiz wurden im 2. Experiment ebenfalls mit Hilfe des Inkongruenzmaßes beurteilt (Bereich: 30-100 Hz; energieunabhängig); die Gruppenmittelwerte sind

in Abb. 4.19 aufgetragen. Auch dieser Parameter spiegelt das unterschiedliche Antwortverhalten der beiden Untersuchungsreihen vor allem auf den Duftstoff Geraniol wider und bestätigt in guter übereinstimmung mit den anderen Auswertmethoden die, in den entsprechenden Gruppen fast gleich hohen Werte für die Veränderungen infolge des Nest-Stimulus'. Die Antworten auf den synthetischen Duftstoff Buttersäure sind, soweit meßbar (Tag 35), ebenfalls als gleich stark zu verstehen. In der statistischen Analyse werden die bisher hinsichtlich des Reiz-Antwortverhaltens gewonnenen Erkenntnisse weiter gefestigt (vgl. Tab. 4.1-4.6): Die früher bedampften Versuchstiere (E2a) unterscheiden sich von denjenigen, die den Duftstoff Geraniol erst ab dem 6. Lebenstag ausgesetzt waren (E2b) insbesondere in den neuronalen Antworten auf den olfaktorischen Stimulus Geraniol 10^{-2} Vol.% .

Für eine weiterführende Statistik (L-Test) mußten über die Reihenfolgen der Antwortstärken zwei Alternativhypothesen aufgestellt werden. Die sehr gleichförmigen Meßdaten der Einzeltiere (vgl. Originalprotokoll; Abb. 4.20) erleichterten jedoch die Entscheidung und führten in Reihe E2a zur Trendhypothese: Antwortstärken: Luft < Geraniol < Buttersäure < Nestmaterial. In Reihe E2b wurde dagegen mit hoher übereinstimmung (8 von 12 Tieren) die Antwortstärke in der Reihenfolge: Luft < Buttersäure < Nestmaterial < Geraniol beobachtet. Der L-Test von Page wurde schließlich für alle drei Parameter durchgeführt.

Mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 1% kann in Reihe E2a die Trendhypothese für die Antwortstärken (s.o.) nur am Tag 35 angenommen werden (alle Parameter: $L \geq 171$). Am Tag 14 ist, außer für V.rel. ($L = 165$; $p < 0{,}05$) die postulierte Tendenz statistisch nicht nachweisbar. In der Reihe E2b läßt sich dagegen die Trendhypothese (s.o.) für die drei Parameter in beiden Altersstadien aufrecht erhalten (alle



6-12 Geraniol; Tag 14; V. eff.

Rang 1	SU	Rang 2	SU	Rang 3	SU	Rang 4	SU
0.04	L	0.10	B	0.13	N	0.53	G
0.11	L	0.23	B	0.47	N	0.62	G
0.42	L	0.69	B	1.71	N	1.74	G
0.03	L	0.07	B	0.13	N	0.23	G
0.07	L	0.29	B	2.10	N	2.53	G
0.02	B	0.24	N	0.27	L	0.62	G

RGS Luft	RGS BS	RGS GE	RGS Nest
8	11	24	17
0	3	16	9

=> d(i)
χ^2_r = 15.0
L = 177.0

0-6 Geraniol; Tag 35; V. eff.

Rang 1	SU	Rang 2	SU	Rang 3	SU	Rang 4	SU
6.34	L	7.20	G	8.08	B	25.30	N
1.48	L	5.06	G	7.97	B	15.79	N
5.93	B	10.50	G	11.98	L	62.04	N
5.51	L	26.79	G	36.89	B	87.46	N
1.58	G	2.77	L	7.70	B	11.46	N
4.82	G	11.12	L	14.20	B	37.03	N

RGS Luft	RGS BS	RGS GE	RGS Nest
10	16	10	24
0	6	0	14

=> d(i)
χ^2_r = 13.2
L = 174.0

Abb. 4.20: Originalprotokoll einer statistischen Auswertung von je 6 Tieren einer Altersgruppe. Meßwerte des effektiven Verteilungsmaßes bei Stimulation mit Luft (L), Buttersäure (B), Nestmaterial (N), Geraniol (G) der numerischen Größe nach geordnet (Ränge).
oben : Reihe E2b, 6 Tiere 14. Tag (untereinander)
unten : Reihe E2a, 6 Tiere 35. Tag (untereinander)

$L \geq 171$; $p \leq 0{,}01$). Werden in der Gegenprobe die Annahmen für beide Reihen vertauscht, so daß für die früher bedampften Tiere die Hypothese der Reihe E2b getestet wird und um-

gekehrt, so ist in keiner Gruppe die Nullhypothese abzulehnen (alle $L \leq 159$, $p > 0{,}05$). In einem verschärften L-Test, der unter Ausschluß des Kontroll-Stimulus' (Luft v.), nur die Relationen zwischen den definitiven Duftsubstanzen analysiert, kann für die früher bedampften Tiere (Hypothese E2a: GE < BS < Nest) am Tag 35 - und für beide Altersgruppen der Reihe E2b (Hypothese: BS < Nest < GE) die jeweils verschärfte Alternativhypothese mit $p \leq 0{,}05$ verifiziert werden.

Dieser Analyse können drei Fakten entnommen werden:

1. Die applizierten Duft-Substanzen werden von den Tieren der beiden Untersuchungsreihen des 2. Experiments unterschiedlich stark beantwortet.
2. Die Reihenfolge der Antwortstärken ist in Reihe E2a (Tag 35, einschl. Luft v.) identisch mit derjenigen, die für die Kontrolltiere (Reihe K) statistisch gesichert werden konnte; die in Reihe E2b für beide Altersstadien aufgestellten Hypothesen sind dagegen identisch mit denjenigen, der Reihe E1; sie können statistisch abgesichert werden ($p \leq 0{,}01$).
3. Die Trendhypothesen sind in keinem Fall vertauschbar, sie gelten nur für die Untersuchungsreihen, für die sie aufgestellt wurden.

4.2.4. Vergleichende Betrachtung beider Experimente

Im ersten Experiment konnten zwischen den geruchsbelasteten Versuchstieren und den Kontrollen auch in späteren Entwicklungsstadien noch Unterschiede in den neuronalen Antworten auf den Duft der Expositionssubstanz nachgewiesen werden. In zweiten Experiment, in dem beide Versuchstierreihen in unterschiedlichen Altersstadien Kontakt mit dem synthetischen Duftstoff hatten, treten ähnliche Unterschiede auf: Die Mediane der Geraniol-Antworten differieren in den beiden Altersgruppen zwischen E2a und E2b signifikant (U-Test; alle $U \leq 4$; $p \leq 0{,}01$).

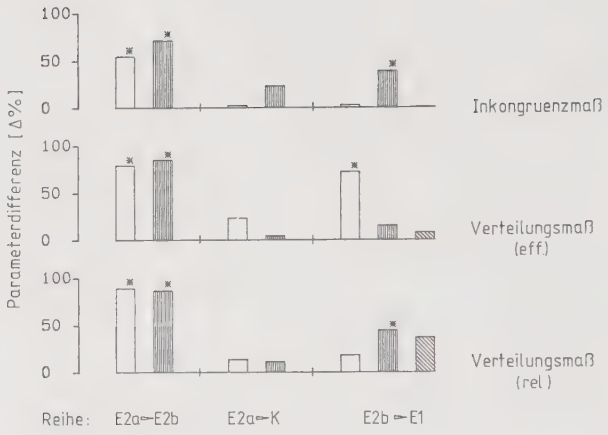


Abb. 4.21: Differenz in der Stärke der neuronalen Reizantworten bei Stimulation mit Geraniol (Δ % absolut).
links : Vergleich Reihe E2a mit Reihe E2b
mitte : Vergleich Reihe E2a mit Reihe K
rechts : Vergleich Reihe E2b mit Reihe E1
○ : 14. Tag : 35. Tag
: Vergleich 35. Tag (E2b) mit 70. Tag (E1)
* : statistisch signifikante Unterschiede (U-Test $p \leq 0,05$)

Abschließend bleibt zu untersuchen, welche Gemeinsamkeiten oder Ungleichheiten zwischen den jeweiligen Altersstadien der vier Untersuchungsreihen (Tag 14, 35 aus K, E1, E2a, E2b) aufzufinden oder statistisch zu belegen sind. Die

Differenzen, die zwischen den einzelnen Reihen in der Beantwortung des Geraniol-Reizes bei allen drei Parametern auftraten, sind in Abb. 4.21 dargestellt (Δ %, abs.). Zum Vergleich sind die Unterschiede zwischen Reihe E2a und E2b mit aufgeführt. Es fällt auf, daß die Abweichungen zwischen Reihe K und E2a, verglichen mit denen aus der Gegenüberstellung E2a → E2b, das geringste Ausmaß haben. Im U-Test ist keiner dieser Unterschiede statistisch sicherbar (alle U ≥ 11; p > 0,05). Auch in den Antworten auf die anderen Duftsubstanzen (nicht dargestellt) kann nur in einem Fall ein statistischer Unterschied gefunden werden. Die weitreichenden Übereinstimmungen können zusätzlich im Vergleich der Abb. 4.17-4.19 mit den Abb. 4.10, 4.11 und 4.13 nachvollzogen werden. Auf die identische Reihenfolge der Antwortstärken in der Reihe K und E2a wurde bereits hingewiesen.

Ein anderes Bild vermitteln dagegen die Daten der Reihen E1 und E2b (Abb. 4.21): Insgesamt erreichen die absoluten Differenzen der Mediane der Reizantwort-Parameter nicht die Höhe der Gegenüberstellung E2a → E2b, jedoch sind gesicherte Unterschiede durchaus vorhanden. Während die Parameter für reine Frequenzverschiebungen (V. rel.; Inkon.M.) bei 14 Tage alten Tieren keine voneinander abweichenden Reaktionen aufdecken können, sind gerade in dieser Beziehung gesicherte Unterschiede bei 5 Wochen alten Tieren zu finden (U ≤ 7; p ≤ 0,05). Für den dritten Parameter (V. eff.), der eine Änderung der neuronalen Gesamtaktivität als Bestandteil der olfaktorischen Reizantworten mit berücksichtigt gilt dagegen genau Umgekehrtes (Tag 14: U = 2; p ≤ 0,01; Tag 35: U = 13; p >> 0,05). Bemerkenswert sind in diesem Zusammenhang die geringen Differenzen, die gegenüber den 70 Tage alten Tieren der Reihe E1 auftreten (Abb. 4.21); auch ein Vergleich der graphischen Darstellungen (Abb. 4.17-4.19 → 4.10, 4.11, 4.13) läßt eher eine Übereinstimmung der 35 Tage alten Tiere aus

E2b mit den adulten Tieren der Reihe E1 erkennen. Statistisch können diese Meßwerte nicht gegeneinander abgegrenzt werden (alle $U \geq 12$; $p >> 0{,}05$).

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß weder bei Stimulation mit dem in allen Reihen "bekannten" Duft von Nestmaterial noch bei Applikation des insgesamt "unbekannten" Duftes von Buttersäure ein wesentlicher Einfluß der Geruchsbelastung meßbar war. Demgegenüber treten in den neuronalen Antworten auf den Geraniol-Stimulus deutliche Unterschiede zwischen den Versuchstieren der Reihen E1, E2b und den Kontrollen auf. Die gleich nach der Geburt nur kurzzeitig bedampften Tiere entsprechen in ihrem neuronalen Antwortverhalten dagegen eher den Kontrolltieren. Eine 13-tägige Bedampfung mit Geraniol führt jedoch nur zu einem bedingt vergleichbaren Reiz-Antwortverhalten auf den Expositionsduft, wie eine, ab dem 6. Lebenstag durchgeführte 7-tägige Geruchsbelastung.

5. Diskussion

5.1. Analysemethoden olfaktorischer Reizantworten

Ein zentrales Problem der vorliegenden Untersuchungen bestand darin, mit Hilfe einer geeigneten Methode die experimentell induzierten Veränderungen in den abgeleiteten Potentialen des Bulbus olfactorius von den komplexen Vorgängen zu trennen, die in den Elektroencephalogrammen als Folge der ontogenetischen Entwicklung zu beobachten sind. Außer der von einigen Autoren angewandten Messung von evozierten Potentialen (Ottoson, 1959 b; Westecker, 1970; Wenzel und Sieck, 1972; Beuermann, 1975; Schmidt, 1978; Schmidt C., 1982) ist es bisher -im Gegensatz zu den anderen Sinnesorganen- noch nicht gelungen, auf der Ebene der olfaktorischen Sekundärneurone eine eindeutige, reproduzierbare und quantifizierbare Reiz-Antwort-Beziehung herzustellen. Daher war es notwendig, die auftretenden Phänomene (Energieveränderung, Frequenzverlagerung, Oszillationsverschiebung bei Reiz) möglichst vielschichtig zu analysieren. Diesem Zweck dienten die drei verschiedenen mathematisch-statistischen Ansätze und es bestand die Hoffnung schließlich eine Methode zu finden, die zur elektrophysiologischen Quantifizierung von Reizantworten im olfaktorischen Hauptsystem von Labormäusen geeignet ist.

Die hier vorgestellten Ergebnisse bestätigen insofern die Validität der drei gewählten Analyseverfahren, da mit ihnen offenbar neurophysiologische Veränderungen im Bulbus olfactorius, die als Folge eines olfaktorischen Reizes auftreten, objektiv meßbar sind.

Insbesondere bei jungen Tieren scheint das relative Verteilungsmaß eine hohe Empfindlichkeit gegenüber olfaktorisch induzierten Veränderungen in den abgeleiteten Potentialen zu haben. So ist es z.B. bemerkenswert, daß die in Reihe E1 als

"Artefakt" in Erscheinung getretenen starken Reizantworten auf Nestmaterial (Tag 14, 19) mit hoher Sicherheit auf minimale Verunreinigungen des Nestmaterials mit dem den Tieren selbst noch anhaftenden Duft von Geraniol zurückzuführen sind. In einer gaschromatographischen Überprüfung konnte in einem Fall ein schwacher Peak im Bereich der Geraniol-typischen Retentionszeit beobachtet werden. Aufgrund der ohnehin schon hohen Verstärkung (i.e. geringen Attenuation) und der starken Überlagerung mit Nest-spezifischen Duftstoffen konnte diesem Befund jedoch nicht weiter nachgegangen werden.

In späteren Altersstadien, mit Ausbildung der hochfrequenten Oszillationen, gewinnt dagegen das Inkongruenzmaß zunehmend an Effizienz. Es ist vor allem gegenüber Störeinflüssen (Bewegung der nicht narkotisierten Versuchstiere; veränderter Respirationsrhythmus) weitgehend unempfindlich, da es eng auf den Frequenzbereich der Oszillationen begrenzt werden kann. Gleichzeitig liefert diese Methode einen Beitrag dazu, den bereits mehrfach beschriebenen oder vermuteten Einfluß von Duftreizen auf die Oszillationen oder "induced waves" (Ottoson, 1959a; Freeman, 1960; Boudreau et al., 1963; Beuermann, 1975; Scott et al., 1977; Schmidt C., 1979; De Boer et al., 1981; Bressler, 1984) qualitativ zu erfassen. Möglicherweise besitzt auch diese Methode eine hohe Empfindlichkeit zur Messung olfaktorischer Reizantworten; in eigenen Untersuchungen konnten bei adulten Labormäusen noch reproduzierbare Antworten (Frequenzverschiebungen) auf einen Geraniol-Stimulus der Konzentration 10^{-11} Vol.% gemessen werden. Erstaunlich war dabei, daß die Frequenzänderungen offenbar nicht von der Konzentration des verwendeten Duftstoffes abhingen, sondern eher in Form eines "Alles oder Nichts" -Prinzips vorlagen.

Das effektive Verteilungsmaß schließlich bezieht den wichtigen Aspekt der neuronalen Gesamtaktivität mit ein und ist

daher bei der Beurteilung ob überhaupt eine Reaktion auf einen olfaktorischen Reiz auftritt besonders hilfreich.

Die verschiedenartigen Prozesse, die im Bulbus olfactorius als Antworten auf Duftreize zu beobachten sind und die tiefgreifenden Umstrukturierungen der Potential-Spektren im Laufe der Jugendentwicklung verhindern, daß eine Methode allein umfassende Kenntnis von den, durch eine mehrtägige Geruchsbelastung ausgelösten Veränderungen in den neuronalen Antwortmustern verschafft. Erst durch die parallele Anwendung der drei verschiedenen Auswertmethoden, in Kombination mit den adäquaten statistischen Tests konnte die notwendige Sicherheit bei der Interpretation der Ergebnisse erreicht werden.

5.2. Ontogenese der neuronalen Spontanaktivität

Das olfaktorische Hauptsystem, der Bulbus olfactorius, ist bei neugeborenen Labormäusen weder anatomisch noch funktional voll ausdifferenziert. Während die Primärneuronen der olfaktorischen Peripherie bereits frühembryonal angelegt werden (Cuschieri und Bannister 1975 a,b; Yaku et al., 1982) und auch chemosensibel erscheinen (Gesteland et al., 1982), bilden sich die synaptischen Kontakte zu den Sekundärneuronen, den Mitralzellen, in großem Umfang erst postnatal aus Hinds, 1968; Hinds et al., 1979) und erreichen etwa ab der 3. Lebenswoche eine histologisch differenzierte "adulte" Struktur (Monti-Graziadei et al., 1982) Parallel zu dieser Entwicklung nimmt die elektrophysiologisch ableitbare Summenaktivität des Bulbus von etwa 5% (1. Woche) auf ca. 80% 3. Woche) der Adultaktivität zu (Salas et al., 1969; Schmidt et al., 1983). Ganz ähnliche Verhältnisse finden sich bei jungen Nagern auch in anderen cortikalen Regionen, in denen, beginnend mit der ersten Lebenswoche, bis zur 3.-4. Woche zunehmende Amplituden der neuronalen Aktivität gemessen werden können (Huttenlocher, 1967; Deza und Eidelberg,

1967; Fuji et al., 1978).

Obwohl zwischen den Tieren der Reihe E1 und K in keinem Atersstadium gesicherte Unterschiede in der neuronalen Gesamtaktivität oder der Frequenzzusammensetzung der Potentiale funden wurden, läßt eine zusammenfassende Betrachtung der Einzelfaktoren einen insgesamt leicht retardierten Entwicklungsverlauf in Reihe E1 erkennen. Sowohl die Zunahme der Gesamtaktivität (Abb. 4.1) als auch die Entwicklung hochfrequenter Oszillationen (Abb. 4.2) bzw. die Energiezunahme im Oszillationsbereich (Abb. 4.3) verläuft flacher als in Reihe K. Die ersten Maximalwerte bzw. Adultwerte treten etwa eine Zeitgruppe verzögert gegenüber den Kontrollen auf. Es ist daher nicht auszuschließen, daß eine 13-tägige Geruchsbelastung einen ähnlichen, in seiner Wirkung jedoch verminderten Einfluß auf die Aktivitätsentwicklung des olfaktorischen Hauptsystems ausübt, wie eine permanent durchgeführte Bedampfung (Eckert und Schmidt, 1983), die zu einer deutlich retardierten Aktivitätszunahme innerhalb der ersten 35 Tage führte. Leider können die Werte des Experiments 2 mit weiter verkürzten Bedampfungszeiten nur wenig Aufschluß über diesen Sachverhalt geben, da die fehlenden Altersgruppen 19 und 26 eine Trendaussage nicht zulassen. Es fällt lediglich auf, daß die früher bedampften Tiere (Reihe E2a), die auch in ihren übrigen Parametern eher den Kontrollen entsprechen, die höhere Gesamtaktivität aufweisen.

Auch in histologischen Untersuchungen können Veränderungen der Mitralzellschicht des Bulbus olfactorius, die bei duftexponierten Jungtieren erkennbar sind (Døving und Pinching, 1973; Pinching und Døving, 1974; Laing und Panhuber, 1978) in ihrem Umfang mit der Dauer der Geruchsbelastung korreliert werden. Die selektive Aufnahme von ^{14}C-Desoxyglucose in bestimmten Arealen des Bulbus-Gewebes ist sowohl von der verwendeten Substanz, als auch von der Expositionsdauer (1,

9, 21 Tage: Astic und Saucier, 1982 a,b) abhängig.

In der Reihe der Kontrolltiere zeichnet sich gegenüber vorangegangenen Untersuchungen (Schmidt et al., 1983; Eckert und Schmidt, in Vorb.) auch eine leichte Verzögerung in der Aktivitätsentwicklung ab. Das erste Maximum neuronaler Aktivität tritt in dem hier durchgeführten Experiment etwa um 6-8 Tage später, als bei den, unter normalen Laborbedingungen gehaltenen Labormäusen auf (Tag 18-20). Ob hier evtl. die Ernährung der Jungtiere mit überwiegend Körnerfutter -die vermutlich auch zu einen um 5-10 % verringerten Gewicht gegenüber Pressfutter-ernährten Jungtieren führte- ausschlaggebend war, erscheint unwahrscheinlich. Eine andere Erklärung bietet die olfaktorisch reizarme Umgebung, der die Tiere von Geburt an ausgesetzt waren. Døving (1973) weist darauf hin, daß die Zell-Degenerationen infolge einer permanenten überstimulation ein histologisch ähliches Erscheinungsbild haben, wie die transneuronalen Degenerationen nach Abtrennung der olfaktorischen Peripherie (Matthews und Powell, 1962; Pinching und Powell, 1971; Gozzo et al., 1984). Auch die in einer frühen Entwicklungsphase durchgeführte Okklusion einer Nasenöffnung führt bei Ratten und Mäusen zu einem um ca. 30% verminderten Wachstum des ipsilateralen, deprivierten Bulbus (Meisami, 1976; Benson et al., 1984), dessen neuronale Spontanaktivität etwa nur 10% des intakten kontralateralen Bulbus' aufweist (Breipohl und Eckert in Vorb.), und dessen neuronale Stoffwechselaktivität (z.B. Na-K-ATPase) um ca. 80% vermindert ist (Meisami et al., 1982). Bei diesen Deprivationsversuchen werden, wie bei den Expositionsexperimenten, vor allem die Neurone der Mitral-Zellschicht verändert (Meisami et al., 1981), die offenbar an der Gesamtaktivität des Bulbus einen hohen Anteil haben (Green, 1961; Shafa et al., 1981).

Es ist daher denkbar, daß zwei verschiedenartige Umweltbe-

dingungen (duftarm, duftstoffangereichert) in den Reihen K und E1 während der Ontogenese zu korrespondierenden neurologischen Deformationen geführt haben, wobei durchaus unterschiedliche Areale des Bulbus betroffen sein können. In der neuronalen Gesamtenergie der Summenpotentiale wäre allerdings dieser Unterschied nicht, oder nur sehr schwer auffindbar.

Der Entstehungsmechanismus hochfrequenter Oszillationen -ein elektrophysiologisches Charakteristikum des Bulbus olfactorius- konnte, seit sie von Adrian (1942) erstmals beschrieben wurden, bisher nicht aufgedeckt werden. Während Hensel (1966) noch davon ausgeht daß es sich um eine Spontanaktivität von Elementen innerhalb des Bulbus handelt, deren Aktivität auch nach völliger Isolation weiter besteht, zeigen neuere Untersuchungen bei okkludierten Nares der Tiere ein vollständiges Verschwinden der hochfrequenten Potentialwellen (Schmidt C., 1979; Freeman und Schneider, 1982) und belegen damit die Vermutung Adrians (1950) daß die Atemluft induzierend auf diese Potentiale wirkt. Bemerkenswert ist jedoch, daß zwar die Häufigkeit der in "bursts" auftretenden Oszillationen mit steigender Atemfrequenz zunimmt, die mittlere Frequenz jedoch weitgehend unverändert bleibt. Die Oszillationsfrequenz ist also nicht mit der Atemfrequenz korrelierbar (Eckert, 1983) und scheint daher eher durch die Art der Neuronen-"Schaltkreise" determiniert zu sein, in denen es zu oszillierenden Rückkoppelungen zwischen exzitatorischen und inhibitorischen Neuronen des Bulbus, möglicherweise sogar übergeordneter Zentren kommt (Bressler und Freeman, 1980; Bressler, 1984; übersicht bei: Shepherd, 1979). Während der Jugendentwicklung zeigt der Bulbus neben einer reinen Volumenzunahme (Smith, 1935) auch eine Zunahme der synaptischen Endigungen auf den inneren Körner-

zellen (Hinds et al., 1976; Hinds et al., 1979), die maßgeblich an den interneuronalen Übertragungseigenschaften (dendrodendritische reziproke Synapsen) beteiligt sein dürften. Es ist leicht einzusehen, daß durch die Leitungsgeschwindigkeit innerhalb eines oszillierenden Systems die Frequenz beeinflußt werden kann.

Die im Verlauf der postnatalen Entwicklung nachgewiesene Frequenzveränderung im Spektrum der Bulbus Potentiale könnte insofern das elektrophysiologische Korrelat der sich differenzierenden neuronalen Verknüpfungen im Bulbus olfactorius junger Labormäuse sein.

5.3. Neuronale Reizantworten nach Geruchsbelastung

Labormäuse, die in einer frühen Phase der Jugendentwicklung einer einzelnen, dominierenden Duftsubstanz ausgesetzt waren, zeigen in späteren Altersstufen, bis zum Adultstadium gegenüber Kontrolltieren erhöhte Reizantworten auf diesen Duftstoff. Der Zeitpunkt und die Dauer der Exposition sind allerdings ein entscheidender Faktor bei der Auslösung veränderter Antwortmuster. Während eine von Geburt an durchgeführte Geruchsbelastung zu deutlich verstärkten Reizantworten an fast allen späteren Meßzeitpunkten führt, kann eine Halbierung der Expostionszeit nahezu wirkungslos bleiben, wenn die Bedampfung innerhalb der ersten 6 Entwicklungstage stattfindet. Wird mit der Exposition jedoch erst am 7. Tag begonnen und diese bis zum 13. Tag beibehalten, so können verstärkte olfaktorische Antworten bei Applikation des Expositionsduftes im Bulbus auch noch nach 5 Wochen gemessen werden. Diese Befunde legen die Vermutung nahe, daß junge Labormäuse besonders in der 2. Lebenswoche eine Phase erhöhter Sensibilität für olfaktorische Einflüsse durchlaufen, die anhaltende, möglicherweise irreversible Veränderungen in den neuronalen Antworten auf einen "bekannten" Duft zur Folge

haben.

Untersuchungen über den Einfluß fortgesetzter, von Geburt an durchgeführter Geruchsbelastungen auf das olfaktorisch geleitete Wahlverhalten (Brunjes et al., 1979; Galef et al., 1980; Laing et al., 1980; Brown et al., 1983) kommen übereinstimmend zu den Ergebnissen, daß der "bekannte" Duftstoff gegenüber "fremdem" Duft bevorzugt wird. Unter bestimmten Voraussetzungen kann dagegen das "Interesse" an fremd duftenden Substanzen (i.e. Aufnahme von unbekannter Nahrung) durch eine frühe Exposition verstärkt werden (Hennessy et al. 1977). Auch die neuronale Stoffwechselaktivität, gemessen an der Resorption radioaktiv markierter Desoxyglucose, ist höher wenn die Umgebung mit Duftstoff angereichert war (Greer et al., 1982), oder wenn der ursprüngliche Expositionsduft als olfaktorischer Reiz appliziert wird (Astic und Saucier, 1982 a,b; Coopersmith und Laing, 1984).

Ebenfalls auf verhaltensphysiologischer Ebene konnten Porter und Etscorn bereits 1974 nachweisen, daß der olfaktorische Sinn während bestimmter Entwicklungsphasen stärker durch eine Geruchserfahrung beeinflußbar ist, als zu anderen Zeitpunkten und sie ermittelten in darauffolgenden Experimenten bei Stachelmäusen eine "sensible Phase" innerhalb der ersten 3 Lebenstage (Porter und Etscorn, 1976). Diese Jungtiere zeigten eine signifikante Präferenz für das bekannte Duftmaterial, während später exponierte Tiere (Tag 3-6) den synthetischen Duft nichtmehr gegenüber einem unbekannten Material bevorzugten. Auch Cornwell (1975; 1976) konnte bei jungen Hamstern nachweisen, daß eine Duftexposition innerhalb der ersten postnatalen Woche die Präferenz oder Toleranz für einen synthetischen Duft verändern kann, und sie greift in einer späteren Publikation (Cornwell-Jones, 1979) ebenfalls den Begriff "sensible Phase" auf, als sie nur eine Bevorzugung des bekannten Duftes vorfindet, wenn innerhalb der er-

sten 10 Lebenstage bedampft wurde.

In scheinbarem Widerspruch dazu stehen die Resultate aus ähnlichen Expostions-Experimenten an jungen Ratten (Rudy et al., 1980; Corby et al., 1982; Galef, 1982; Smith et al., 1983) in denen olfaktorisch "sensible Phasen" aufgedeckt wurden, die eher in der 2.-3. Lebenswoche lagen. Leon et al. (1984) tragen jedoch mit ihren vergleichend histologischen Untersuchungen wesentlich dazu bei, diese zeitlich unterschiedlichen Phasen (1.-3. Tag vs. 10.-19. Tag) zu verstehen, indem sie nachweisen, daß Nestflüchter (z.B. Acomys; Mesocricetus) erheblich frühzeitiger differenzierte Bulbus-Strukturen besitzen, als sie bei Nesthockern (z.B. Rattus; Mus) gefunden werden. Da eine olfaktorische "Prägung" auf den Duft des Nestes und dessen olfaktorischer Umgebung nur dann sinnvoll ist, wenn die Jungtiere noch nicht ihre volle Mobilität erreicht haben, ist leicht einzusehen, daß eine sensible Phase z.B. bei Acomys cahirinus, die innerhalb von 34 - 36 Std. ihr Nest verlassen (Dieterlen, 1970), nur in den ersten Stunden nach der Geburt auftreten kann. Andererseits darf bei Nesthockern z.B. Mus musculus, die etwa 8-9 Tage post partum (noch mit geschlossenen Augen) das Nest verlassen eine sensible Phase erst zu diesm Zeitpunkt auftreten, um eine zu frühe olfaktorische Bindung an eine Brutstätte zu vermeiden, die u.U. vom Muttertier noch einmal gewechselt wird.

Die mit elektrophysiologischen Methoden gefundenen Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung werden weitgehend von den o.a. Literaturdaten und weiterführenden Überlegungen unterstützt. Die starken Reizantworten auf Geraniol in Reihe E1 und E2b könnten das neuronale Substrat einer verhaltensphysiologischen Präferenz für einen bekannten Umgebungsduft sein. Unter dem gleichen Blickwinkel sind auch die starken Antworten der Kontrolltiere auf Nestmaterial einsichtig. An-

dererseits wird deutlich, daß der Nest-Geruch nicht von einem synthetischen Duft trennbar ist, sondern in Reihe E1 und E2b stets als Bestandteil des "gewohnten" Umgebungsduftes gleich stark beantwortet wird. Ein statistisch gesicherter Unterschied konnte in praktisch keinem Fall nachgewiesen werden.

Die im 2. Experiment vorgenommene Halbierung der Geruchsbelastung engt die Phase erhöhter Sensibilität für den Umgebungsduft zwar auf den Zeitraum zwischen dem 7. und 13. Entwicklungstag ein, jedoch ist vorstellbar, daß sie noch über den 14. Lebenstag hinaus reicht, oder kurz vor dem 7. Tag beginnt. Einen Hinweis auf einen etwas früheren Beginn geben evtl. die beschriebenen Unterschiede zwischen den Tieren der Reihe E1 und E2b. Da aber die Versuchstiere, die bereits vor dem 7. Lebenstag exponiert wurden (E1) insgesamt schwächere Reizantworten im Vergleich zu E2b zeigen und erst am 70. Lebenstag gleich hohe Werte wie die später bedampften Tiere (E2b) am 35. Tag erreichen, könnte auch auf einen negativen Einfluß einer zu langen Duftexpostion mit retardiertem neuronalen Entwicklungverlauf bei den, von Geburt an exponierten Tieren geschlossen werden.

Eine besondere Bedeutung scheint den olfaktorischen Reizantworten auf den Duftstoff Buttersäure zuzukommen. In der Reihenfolge der Antwortstärken nehmen diese in Reihe K und E2a die 2. Stelle nach Nestmaterial ein (L-Test). Obwohl in den Reihen E1 und E2b die Antwortstärken auf Buttersäure i.A. an 3. Stelle stehen (L-Test), sind die effektiven Meßwerte oft gleich groß, wie diejenigen der Kontrolltiere. In der Versuchsplanung war vorgesehen, den Duft von Buttersäure als einen in allen Untersuchungsreihen "fremden" Duft einzusetzen; leider kann anhand der elektrophysiologischen Messungen und der später durchgeführten gaschromatographischen Analysen nicht ausgeschlossen werden, daß Buttersäure als

ein Bestandteil des Nest-Geruchs vorkommt und deshalb, wenn auch nur in geringen Konzentrationen, allen Versuchstieren "bekannt" war. Beachtlich wäre allerdings, daß über den Umweg der elektrophysiologischen Messung olfaktorischer Reizantworten im Riechhirn dieser Sachverhalt aufgedeckt werden konnte und so die Empfindlichkeit der gewählten Methoden erneut unter Beweis stellte.

5.4. Abschließende Betrachtung

Das olfaktorische Hauptsystem von Labormäusen unterliegt innerhalb der ersten 2 Lebenswochen einem strukturellen und funktionalen Reifungsprozess, der in bestimmten Entwicklungsphasen von den olfaktorischen Erfahrungen der Jungtiere nachhaltig beeinflußt wird. Mit Beginn der 3. Lebenswoche kann, nach dem öffnen der Augen, der Gesichtssinn eine wesentliche Funktion bei der Orientierung der Jungtiere übernehmen. Das olfaktorische System scheint zu diesem Zeitpunkt soweit differenziert zu sein, daß die einmal angelegten Duftpräferenzen nicht mehr verändert werden, wenn auch die neuronale Gesamtaktivität und damit die Antwortstärke des Bulbus infolge zunehmender neuronaler Verknüpfungen weiter anwächst.

In Analogie zum visuellen - und auditiven Sinn liegt hiermit der Schluß nahe, daß - nach der von K. Lorenz (1935) eingeführten Bezeichnung - auch über den Geruchssinn eine Prägung der Jungtiere möglich ist. Eibl-Eibesfeldt (1967) faßt die zwei wesentlichen Kriterien "sensible Phase" und "Irreversibilität" zusammen als: "1. Eine Prägung findet immer nur in bestimmten sensiblen Phasen statt" und: "2. Die erworbene Kenntnis des auslösenden Objekts wird zeitlebens beibehalten..., das Gelernte wird aber nicht nur behalten, sondern das Objekt der Prägung wird auch zeitlebens bevorzugt."

Die auf neuronaler Ebene nachgewiesenen, präferenten Reizantworten auf den Duft von Geraniol im subadulten und auch

adulten Stadium der Tiere könnten demzufolge durch eine irreversible, in einer sensiblen Phase erworbene "Kenntnis" eines spezifischen olfaktorischen Reizes ausgelöst worden sein.

Da unser Verständnis von der Entwicklung sensorischer Systeme heute hauptsächlich auf Versuchen basiert, in denen Deprivationen und Deafferentiationen durchgeführt wurden, können die hier vorliegenden, mit elektrophysiologischen Methoden gewonnenen Ergebnisse dazu beitragen, mehr davon zu verstehen, wie die Entwicklung des Geruchssinnes durch normale Variation sensorischer Erfahrungen beeinflußt wird.

6. Zusammenfassung

Der Einfluß frühjugendlicher Geruchsbelastungen auf die Entwicklung der neuronalen Aktivität und der Reizantworten des Bulbus olfactorius wird bei Labormäusen in verschiedenen Altersstadien untersucht.

Im Experiment 1 werden die Versuchstiere von Geburt an 13 Tage dem Duft der Reinsubstanz Geraniol ausgesetzt und die Summenaktivität des Bulbus' im Alter von 14, 19, 26, 35 und 70 Tagen (adult) abgeleitet (Reihe E1). Drei spezielle, computergestützte Analyseverfahren gestatten es, die Energie- Frequenz- und Oszillationsfrequenz-Änderungen in den Potentialwellen, die als Folge von Stimulationen mit Buttersäure, Nestmaterial und Geraniol auftreten quantifizieren zu können. Als Kontrollen (Reihe K) dienen Tiere der gleichen Altersstufen, die aber zu keinem Zeitpunkt ihrer Entwicklung Kontakt mit dem Duft von Geraniol hatten.

Die Zunahme der neuronalen Gesamtaktivität und die entwicklungsbedingte Frequenzverlagerung der ab dem 19. Lebenstag vorhandenen Oszillationen wird durch eine 13-tägige Duftbelastung kaum beeinflußt. Während die Kontrollen bereits am 35. Tag adult-ähnliche Meßwerte erreichen, zeigt der Entwicklungsverlauf der bedampften Tiere (E1) eine etwas flachere Anstiegstendenz. In den einzelnen Altersgruppen sind signifikante Unterschiede zu den Kontrollen jedoch nicht zu finden.

Die Antwortstärken der E1-Tiere auf den Geraniol-Stimulus erweisen sich mit allen drei Auswertmethoden als signifikant erhöht gegenüber den Geraniol-Antworten der Kontrollen. Die Duftstoffe Nestmaterial und Buttersäure bewirken dagegen in beiden Untersuchungsreihen annähernd gleich starke Reizantworten. Ab dem 19. Tag werden die eingenommenen

Duft-"Präferenzen" (i.e. Reihenfolge der Antwortstärken auf die versch. Stimuli) nichtmehr verändert: Der Geraniol-Reiz führt in Reihe E1 zu den höchsten - , in Reihe K zu den zweitschwächsten (nach Luft) neuronalen Reaktionen.

Im Experiment 2 wird die Expositionsdauer halbiert. Eine Reihe (E2a) wird von Tag 0-6, die andere (E2b) von Tag 7-13 dem Duft von Geraniol ausgesetzt. Die Bulbus-Aktivität und -Antworten werden am 14. und 35. Lebenstag abgeleitet, die Meßwerte werden untereinander (E2a;E2b) und mit den Ergebnissen aus Experiment 1 verglichen.

Die neuronale Gesamtaktivität bleibt in beiden Reihen nahezu unbeeinflußt, die hochfrequenten Oszillationen treten unverändert nach dem 14. Lebenstag auf und sind am 35. Tag voll ausgebildet.

Die Reizantworten auf Geraniol liegen in Reihe E2a weit hinter denen zurück, die in E2b gemessen werden. Buttersäure und Nestmaterial werden in beiden Reihen nicht unterschiedlich beantwortet. Der Vergleich mit dem Experiment 1 läßt erkennen, daß eine Exposition in der ersten Lebenswoche keine meßbaren Veränderungen in den neuronalen Antwortmustern erzeugen kann; diese Tiere entsprechen den Kontrolltieren. Die in der Dauer reduzierte, ab dem 7. Tag durchgeführte Exposition in E2b hat dagegen ähnlich präferente Reizantworten auf Geraniol zur Folge, wie eine 13-tägige Duftbelastung. Da die Antwortstärken in E2b bereits am 35. Tag die Größenordnung derer aus E1 am 70. Tag haben, ist nicht auszuschließen, daß eine kurzzeitige Exposition zur Induktion einer Duftpräferenz aber nicht zu einem retardierten Entwicklungsverlauf führt.

Die Anwendung des Begriffs "Prägung" auf den nachgewiesenen Effekt der Duftexposition wird diskutiert.

7. Danksagung

Herrn Professor Dr. U. Schmidt danke ich für die Überlassung des Themas und die zahlreichen Anregungen bei der Durchführung dieser Arbeit.

Die Deutsche Forschungsgemeinschaft stellte die finanziellen Mittel zur Verfügung.

8. Literatur

ADRIAN, E.D. (1942): Olfactory reactions in the brain of the hedgehog. J. Physiol. 100: 459-473.

ADRIAN, E.D. (1950): The electrical activity of the mammalian olfactory bulb.
Electroenceph. Clin. Neurophys. 2: 377-388.

ALBERTS, J.R. (1976): Olfactory contributions to behavioral development in rodents. In: Mammalian olfaction, reproductive processes and behavior. Editor: L. DOTY
Academic Press, New York.

ALBERTS, J.R. (1982): Ontogeny of olfaction: issues and perspectives from contemporary research.
In: Olfaction and endocrine regulation.
Editor: W. BREIPOHL, IRL Press Ltd., London.

ASTIC, L.; SAUCIER, D. (1982 a): Metabolic mapping of functional activity in the olfactory projections of the rat; ontogenetic study. Dev. Brain Res. 2: 141-156.

ASTIC, L.; SAUCIER, D. (1982 b): Ontogenesis of the functional activity of rat olfactory bulb. Autoradiographic study with 2-desoxyglucose method.
Dev. Brain Res. 2: 243-256.

BENSON, T.E.; RYUGO, D.K.; HINDS, J.W. (1984): Effects of sensory deprivation on the developing mouse olfactory system: a light and electron microscopic, morphometric analysis. J. Neurosci. 4 (3): 638-653.

BEUERMANN, R.W. (1975): Slow potentials of the turtle olfactory bulb in response to odor stimulation of the nose.
Brain Res. 97: 61-78.

BOUDREAU, J.C. (1964): Computer analysis of electrical activity in the olfactory system of the cat. Nature (Lond.)
201: 155-158.

BOUDREAU, J.C.; FREEMAN W.J. (1963): Spectral analysis of electrical activity in the prepyriform cortex of the cat. Exper. Neurol. 8: 423-439.

BRESSLER, S.L. (1984): Spatial organization of EEG's from olfactory bulb and cortex.
Electroenceph. Clin. Neurophysiol. 57: 270-276.

BROWN, R.E. (1982): Preferences of pre- and post-weanling Long-Evans rats for nest odors. Physiol. Behav. 29: 865-874.

BROWN, R.E.; ELRICK, D. (1983): Preferences of pre-weanling Long-Evans rats for anal excreta of adult males and females. Physiol. Behav. 30: 567-571.

BRUNJES, P.C.; ALBERTS, J.R. (1979): Olfactory stimulation induces filial preferences for huddling in rat pups. J. Comp. Physiol. Psychol. 93 (3): 548-555.

CHAPUT, M.; HOLLEY, A. (1982): Single unit responses of olfactory bulb neurones to odour presentation in awake rabbits. J. Physiol.(Paris) 76: 551-558.

COCHRAN, W.G. (1954): Some methods for strengthening the common x^2tests. Biometrics 10: 417-451.

COOPERSMITH, R.; LEON, M. (1984): Enhanced neural responses to familiar olfactory cues.
Science 225 (4664)84: 849-851.

CORBY, J.R.; CAZA, P.A.; SPEAR, N.E. (1982): Ontogenetic changes in the effectiveness of home nest odor as a conditioned stimulus. Behav. Neural Biol. 35: 354-367.

CORNWELL, C.A. (1975): Golden Hamster pups adapt to complex rearing odors. Behav. Biol. 14: 175-188.

CORNWELL, C.A. (1976): Selective olfactory exposure alters social and plant odor preferences of immature Hamsters. Behav. Biol. 17: 131-137.

CORNWELL-JONES, C. (1979): Olfactory sensitive Periods in Albino Rats and Golden Hamsters.
J. Comp. Physiol. Psychol. 93 (4): 668-676.

CUSCHIERI, A.; BANNISTER, L.H. (1975 a): The development of the olfactory mucosa in the mouse: Electron microscopy. J. Anat. (Lond.) 119: 471-498.

CUSCHIERI, A.; BANNISTER, L.H. (1975 b): The development of the olfactory mucosa in the mouse: Light microscopy. J. Anat. (Lond.) 119 (2): 277-286.

DE BOER, J.N.; VERBERNE, G. (1981): Slow and fast wave activity in the olfactory system in cats during perception of pheromones. Physiol. Behav. 27: 223-229.

DEZA, L.; EIDELBERG, E. (1967): Development of cortical electrical activity in the rat. Exper. Neurol. 17: 425-428.

DIETERLEN, F. (1970); Wurzelratten, Blindmäuse und Mäuse. In: GRZIMEK'S Tierleben 2 (11): 344-383. Kindler Verlag, Zürich.

DIXON, W.J. (1954): Power under normality of several nonparametric tests. Ann. Math. Stat. 25: 610-614.

DØVING, K.B.; PINCHING, A.J. (1973): Selective degeneration of neurones in the olfactory bulb following odour exposure. Brain Res. 52: 115-129.

ECKERT, M. (1983): Der Einfluß permanenter olfaktorischer Stimuli auf die postnatale Entwicklung der neuralen Aktivität des Bulbus olfactorius bei Labormäusen. Diplomarbeit, Universität Bonn.

ECKERT, M.; SCHMIDT, U. (1983): Der Einfluß permanenter Duftreize auf die ontogenetische Entwicklung der neuralen Aktivität des Bulbus olfactorius bei Labormäusen. Verh.Dtsch.Zool.Ges.: 251; G. Fischer; Stuttgart.

EIBL-EIBESFELDT, I. (1967): Grundriß der vergleichenden Verhaltensforschung. Ethologie. Piper Verlag, München, 5. Aufl.

FAILS, A.M.; VERLANDER, J.M. (1977): Statistical comparison of power-spectra. A computer program. Int. J. Bio-Medical Computing 8: 1-10.

FREEMAN, W.J. (1960): Correlation of electrical activity of prepyriform cortex and behavior in cat. J. Neurophysiol. 23: 111-131.

FREEMAN, W.J.; SCHNEIDER, W. (1982): Changes in spatial patterns of rabbit olfactory EEG with conditioning to odors. Psychophysiol. 19 (1): 44-56.

FUJI, T.; MURAYAMA, K.; IBATA, Y. (1978): The postnatal development of cortical structures and electrical activities in the guinea pig olfactory cortex slices. Brain Res. 142: 546-550.

GALEF, B.G.jr. (1982): Acquisition and waning of exposure-induced attraction to a nonnatural odor in rat pups. Dev. Psychobiol. 15 (5): 479-490.

GALEF, B.G.; KANER, H.C. (1980): Establishment and maintenance of preference for natural and artificial olfactory stimuli in juvenile rats. J. Comp. Physiol. Psychol. 94 (4): 588-595.

GESTELAND, R.C.; YANCEY, R.A.; FARBMAN, A.J. (1982): Development of olfactory receptor neuron selectivity in the rat fetus. Neurosci. 7: 3127-3136.

GOZZO, S.; FULOP, Z. (1984): Transneuronal degeneration in different inbred strains of mice - a preliminary study of olfactory bulb events after olfactory nerve lesions. Neurosci. 23 (3): 187-194.

GREEN, J.D. (1961): Patterned responses in second order neurones of the olfactory bulb. Science 134: 1429.

GREER, C.A.; STEWART, W.B. TEICHER, M.H.;SHEPHERD, G.M. (1982): Functional development of the olfactory bulb and a unique glomerular complex in the neonatal rat. J. Neurosci. 2 (12): 1744-1759.

HAGEMANN, E. (1960): Ratte und Maus. Versuchstiere in der Forschung. W.de Gruyter & Co.; Berlin.

HARTER, H.L. (1960): Critical values for Duncans's new multiple range test. Biometrics 16: 671-685.

HENNESSY, M.B.; SMOTHERMAN, W.P.; LEVINE, S. (1977): Early olfactory enrichment enhances later consumption of novel substances. Physiol. Behav. 19 (4): 481-483.

HENSEL, H. (1966): Lehrbuch der Physiologie: Allgemeine Sinnesphysiologie Hautsinne, Geschmack, Geruch. Springer Verlag Berlin.

HINDS, J.W. (1968): Autoradiographic study of histogenesis in the mouse olfactory bulb. J. Comp. Neurol. 134: 287-304.

HINDS, J.W. (1973): Mitral cell development in the mouse olfactory bulb. Reorientation of Perikaryon and maturation of the Axon initial segment. J. Comp. Neurol. 151: 281-306.

HINDS, J.W.; HINDS, P.L. (1976): Synapse formation in the mouse olfactory bulb. J. Comp. Neurol. 169 (2): 15-40.

HINDS, J.W.; McNELLY, N. (1979): Aging in the rat olfactory bulb: Quantitative changes in mitral cell organelles and somato-dendritic synapses. J. Comp. Neurol. 184: 811-820.

HUTTENLOCHER, P. (1967): Development of cortical neuronal activity in the neonatal rat. Exper. Neurol. 17: 247-262.

IWAHARA, S.; OISHI, H.; SANO, K.; YANG, K.M.; TAKAHASHI, T. (1973): Electrical activity of the olfactory bulb in the postnatal rat. Jap. J. Physiol. 23: 361-370

KÖSTER, E.P. (1965): Olfactory sensitivity and menstrual cycle.. Intern. Rhinol. 3: 57-64.

LAING, D.G.; PANHUBER, H. (1978): Neuronal and behavioral changes in rats following continous exposure to an odor. J. Comp. Physiol. 124: 259-265.

LAING, D.G.; PANHUBER, H. (1980): Olfactory sensitivity of rats reared in an odorous or deodorized environment. Physiol. Behav. 25: 555-558.

LEON, M.; COOPERSMITH, R.; ULIBARRI, C.; PORTER, R.H.; POWERS, J.B. (1984): Development of olfactory bulb organization in precocial and altricial rodents. Dev. Brain Res. 12: 45-53.

LEON, M.; MOLTZ, H. (1971): The development of the pheromonal bond in the albino rat. Physiol. Behav. 7: 265-267.

LIENERT, G.A. (1973): Verteilungsfreie Methoden in der Biostatistik. A. Hain; Meisenheim am Glan; 2. Aufl.

LORENZ, K. (1935): Der Kumpan in der Umwelt des Vogels J. Ornith. 83: 137-413

MACRIDES, F.; CHOROVER, S.L. (1972): Olfactory bulb units: Activity correlated with inhalation cycles and odor quality. Science 175: 84-87.

MACRIDES, F.; DAVIS, B.J. (1983): The olfactory bulb. Edited by P.C. EMSON.: 391-426.

MANN, H.B.; WHITNEY, D.R. (1947): On a test of whether one of two random variables is stochastically larger than the other. Ann. Math. Stat. 18: 50-60.

MATEJCEK, M.; NEFF, G.; TJEERDSMA, H.; KREBS, E. (1984): Pharmaco-EEG-studies with Fluperlapine. Drug Res. 34 (I): 114-120.

MATTHEWS, M.R.; POWELL, T.P.S. (1962): Some observations on transneuronal cell degeneration in the olfactory bulb of the rabbit. J. Anat. (Lond.) 96: 89-102.

MEISAMI, E. (1976): Effects of olfactory deprivation on postnatal growth of the rat olfactory bulb utilizing a new method for production of neonatal unilateral anosmia. Brain Res. 106: 437-444.

MEISAMI, E.; SAFARI, L. (1981): A quantitative study of the effect of early unilateral olfactory deprivation on the number and distribution of mitral and tufted cells and glomeruli in the rat olfactory bulb. Brain Res. 221: 81-107.

MEISAMI, E.; ROBABEH MOUSAVI (1982): Lasting effects of early olfactory deprivation on the growth, DNA, RNA and protein content and Na-K-ATPase and AChE activity of the rat olfactory bulb.
Dev. Brain Res. 2: 217-229

MEISEL, R.L.; LUMIA, A.R.; SACHS, B.D. (1982): Disruption of copulatory behavior of male rats by olfactory bulbectomy at two, but not ten days of age.
Exp. Neurol. 77: 612-624.

MONTI-GRAZIADEI, G.A.; STANLEY, R.S.; GRAZIADEI, P.P.C. (1980) The olfactory marker protein in the olfactory system of the mouse during development. Neurosci. 5: 1239-1252.

NEWMAN-GAGE, H.; WESTRUM, L.E. (1984): Independent development of presynaptic specializations in olfactory cortex of the fetal rat.
Cell Tiss. Res. 237 (1): 103-109

OTTOSON, D. (1959 a): Studies on slow potentials in the rabbit's olfactory bulb and nasal mucosa.
Acta Physiol. Scand. 47: 136-148.

OTTOSON, D. (1959 b): Comparisons of slow potentials evoked in the frog's nasal mucosa and olfactory bulb by natural stimulation. Acta Physiol. Scand. 47: 149-159.

PAGE, E.B. (1963): Ordered hypotheses for multiple treatments. A significance test for linear ranks. J. Am. Stat. Ass. 58: 216-230.

PFANZAGL, J. (1959): Die axiomatischen Grundlagen einer allgemeinen Theorie des Messens. Würzburg, Physica-Verlag.

PINCHING, A.J.; POWELL, T.P.S. (1971): Ultrastructural features of transneuronal cell-degeneration in the olfactory system. J. Cell Sci. 8: 253-287.

PINCHING A.J.; DØVING, K.B. (1974): Selective degeneration in the rat olfactory bulb following exposure to different odours. Brain Res. 82: 195-204.

PORTER, R.H.; ETSCORN, F. (1974): Olfactory imprinting resulting from brief exposure in Acomys Cahirinus. Nature (Lond.) 250: 732-733.

PORTER, R.H.; ETSCORN, F. (1976): A sensitive Period for the development of olfactory preference in Acomys Cahirinus. Physiology and Behavior 17: 127-130.

RUDY, J.W.; CHEATLE, M.D. (1980): Odor aversion learning by neonatal rats: Ontogeny of osmic memory. Chemical Signals, Vertebrates and aquatic Invertebrates Editors: DIETLAND; MÜLLER-SCHWARZE; ROBERT; SILVERSTEIN; Plenum Press (New York): 211-228.

SALAS, M.; GUZMAN-FLORES, C.; SCHAPIRO, S. (1969): An ontogenetic study of olfactory bulb electrical activity in the rat. Physiol. Behav. 4: 699-703.

SALAS, M.; SCHAPIRO, S.; GUZMAN-FLORES, C. (1970): Development of olfactory bulb discrimination between maternal and food odors. Physiol. Behav. 5: 1261-1264.

SACHS, L. (1979): Statistische Auswertungsmethoden. Springer Verlag; Berlin.

SCHAFFER, J. (1940): Die Hautdrüsenorgane der Säugetiere. Urban und Schwarzenberg Verl., Berlin.

SCHMIDT, C.; SCHMIDT, U. (1980): Changes in olfactory sensitivity during the estrus cycle in female laboratory mice. Chemical Senses 5 (4): 359-365.

SCHMIDT, C. (1982): Behavioural and neurophysiological studies of the olfactory sensitivity in the albino mouse. Z. Säugetierkunde 47 (3): 162-168.

SCHMIDT, U. (1978): Evoked-potential measurements of olfactory thresholds of laboratory mice (mus musculus) to carboxylic acids. Chemical Senses 3 (2): 177-182.

SCHMIDT, U.; ECKERT, M.; SCHÄFER, H.J. (1983): Untersuchungen zur ontogenetischen Entwicklung des Geruchssinnes bei der Hausmaus. Z. Säugetierkunde 48 (6): 355-362.

SCHWOB, J.E.; PRICE, J.L. (1984): The development of axonal connections in the central olfactory system of rats J. Comp. Neurol. 223: 177-202.

SCOTT, J.W.; AARON, D.D. (1977): Averaged induced waves in the olfactory bulb of the rat during odor stimulation. Exp. Neurol. 55: 654-665.

SHAFA, F.; SHARAM NAGHI SHINEH; ARDESHIR BIDANJIRI (1981): Development of spontaneous activity in the olfactory bulb neurones of postnatal rat. Brain Res. 223: 409-412.

SHEPHERD, G.M. (1979): The synaptic organization of the brain Oxford University Press II.Ed. New York.

SIXTL, F. (1967): Meßmethoden der Psychologie. Weinheim; Beltz.

SMITH, C.G. (1935): The change in volume of the olfactory and acessory bulbs of the albino rat during post-natal life. J. Comp. Neurol. 61 (3): 477-508.

SMITH, F.J.; CHARNOCK, D.J.; WESTBROOK, R.F. (1983): Odor-aversion learning in neonate rat pups: The role of duration of exposure to an odor. Behav. Neural Biol. 37: 284-301.

VERLANDER, J.M.; HUGGINS, S.E. (1977): Computer analysis of the electroencephalographic activity of the Caiman olfactory bulb. Electroenceph. Clin. Neurophysiol. 42: 829-834.

WENZEL, B.M.; SIECK, M.H. (1972): Olfactory perception and bulbar electrical activity in several avian species. Physiol. Behav. 9: 287-293.

WESTECKER, M. (1970): Alternating characteristics of the evoked potentials in the olfactory bulb in response to repetitive stimulation of the lateral olfactory tract. Brain Res. 17: 142-144.

YAKU, Y.; TAKASHI KANDA (1982): Ultrastructural studies on the pre-natal development of rabbit olfactory bulb: Synaptic formation in glomerular layer, molecular layer, mitral-cell layer and glomerular cell layer. Proceedings 16th Symp. Taste and Smell: 153.

9. Tabellenanhang

In den Tabellen des Anhangs werden die wichtigsten Einzelergebnisse aller Versuchstiere und der Median der jeweiligen Altersgruppe (n = 6) aufgeführt.

Die Werte der Parameter: Relatives Verteilungsmaß, effektives Verteilungsmaß und Inkongruenzmaß sind in den Tabellen getrennt für jeden Duftstoff (Luft v., Buttersäure, Nestmaterial, Geraniol) aufgelistet.

Tab.:9.1	Reihe K						Luft v.
Alter	Aktivität (rel. Energie)						Median
14	0.35	0.08	0.76	1.99	0.18	0.24	0.295
19	3.25	3.99	6.39	4.20	1.29	2.10	3.620
26	8.21	11.32	12.32	12.94	4.55	3.43	9.765
35	9.50	24.64	5.88	4.51	5.25	2.47	5.565
70	30.64	8.03	14.24	19.31	26.90	3.29	16.775

Tab.:9.2	Reihe E1						Luft v.
Alter	Aktivität (rel. Energie)						Median
14	0.35	1.42	0.30	0.35	3.32	0.60	0.475
19	2.28	3.01	1.82	7.10	2.29	3.10	2.650
26	7.31	3.67	5.73	8.28	3.98	12.44	6.520
35	8.90	16.85	10.05	11.57	15.17	5.31	10.810
70	9.40	10.61	20.24	16.92	5.87	19.56	13.765

Tab.:9.3	Reihe E2a						Luft v.
Alter	Aktivität (rel. Energie)						Median
14	0.13	0.34	0.18	0.90	0.19	0.12	0.185
35	8.61	4.07	8.89	8.69	4.70	8.35	8.480

Tab.:9.4	Reihe E2b						Luft v.
Alter	Aktivität (rel. Energie)						Median
14	0.12	0.11	0.49	0.15	0.27	0.24	0.195
35	5.33	3.80	10.72	8.31	4.27	6.16	5.745

Tab.:9.5			Reihe K				Luft v.
Alter	Verteilungsmaß (rel.)						Median
14	1.27	0.43	0.29	0.63	0.91	1.02	0.770
19	0.59	0.43	0.91	0.46	0.38	0.38	0.445
26	0.70	0.81	0.40	1.17	0.65	0.63	0.675
35	0.14	0.73	0.76	0.75	0.68	0.59	0.705
70	1.00	0.36	0.22	0.59	0.22	0.43	0.395

Tab.:9.6			Reihe K				BS 10^{-2}
Alter	Verteilungsmaß (rel.)						Median
14	1.03	0.55	2.35	0.80	2.61	1.61	1.320
19	1.19	2.66	3.80	0.37	1.82	3.97	2.240
26	0.93	2.69	1.33	1.51	2.06	3.65	1.785
35	2.71	2.51	2.58	1.13	1.65	3.85	2.545
70	2.06	0.81	1.06	3.20	3.14	2.19	2.125

Tab.:9.7			Reihe K				Nest
Alter	Verteilungsmaß (rel.)						Median
14	0.84	0.56	1.97	1.93	3.23	3.74	1.950
19	2.09	3.10	4.01	2.45	2.40	4.28	2.775
26	2.39	4.55	2.65	1.20	3.66	4.71	3.155
35	6.45	4.83	2.96	7.71	1.14	4.47	4.650
70	3.39	2.11	2.74	2.72	1.80	4.55	2.730

Tab.:9.8			Reihe K				GE 10^{-2}
Alter			Verteilungsmaß (rel.)				Median
14	0.37	0.39	1.04	1.81	0.59	0.70	0.645
19	1.13	1.38	2.37	0.54	0.32	0.73	0.930
26	3.46	2.00	2.42	0.50	1.57	0.37	1.785
35	0.86	0.26	1.97	1.35	1.64	0.62	1.105
70	1.83	0.54	1.73	1.26	1.26	0.71	1.260

Tab.:9.9			Reihe E1				Luft v.
Alter			Verteilungsmaß (rel.)				Median
14	0.58	0.47	0.41	0.93	0.26	1.00	0.525
19	0.39	0.60	1.27	0.76	0.91	0.90	0.830
26	0.52	0.60	0.30	0.36	0.85	0.33	0.440
35	0.66	1.07	0.36	1.82	0.45	0.47	0.565
70	1.13	0.50	0.68	0.35	1.10	0.29	0.590

Tab.:9.10			Reihe E1				BS 10^{-2}
Alter			Verteilungsmaß (rel.)				Median
14	4.15	0.73	3.66	1.26	0.79	2.22	1.740
19	3.37	2.92	1.01	6.43	3.48	1.66	3.145
26	0.98	4.78	1.86	6.08	1.18	0.83	1.520
35	5.88	6.54	1.80	3.93	2.13	3.26	3.595
70	2.92	2.38	4.95	0.59	6.60	3.64	3.280

Tab.:9.11	Reihe E1						Nest
Alter	Verteilungsmaß (rel.)						Median
14	3.92	4.40	5.02	2.35	0.98	9.58	4.160
19	1.81	4.05	5.90	8.52	2.04	7.04	4.975
26	3.16	5.75	1.63	2.59	5.09	2.57	2.875
35	2.99	1.10	5.21	7.79	6.62	7.33	5.915
70	5.64	3.14	3.49	1.70	5.02	4.39	3.940

Tab.:9.12	Reihe E1						GE 10^{-2}
Alter	Verteilungsmaß (rel.)						Median
14	4.06	2.73	9.62	4.28	3.61	10.85	4.170
19	3.15	2.51	6.78	14.96	5.86	2.01	4.505
26	1.11	6.92	1.21	5.00	3.87	0.78	2.540
35	2.11	4.98	1.60	4.58	3.14	5.60	3.860
70	3.62	2.10	11.01	0.93	5.64	5.69	4.630

Tab.:9.13	Reihe K						Luft v.
Alter	Verteilungsmaß (eff.)						Median
14	0.47	0.03	0.21	1.23	0.18	0.25	0.230
19	1.96	1.67	5.71	1.68	0.52	0.86	1.675
26	6.21	7.57	5.27	14.42	3.13	2.17	5.740
35	1.45	19.31	4.12	3.20	4.69	1.70	3.660
70	29.39	2.96	2.94	11.84	5.88	1.56	4.420

Tab.:9.14			Reihe K				BS 10^{-2}
Alter			Verteilungsmaß (eff.)				Median
14	0.22	0.06	1.98	1.57	0.53	0.51	0.520
19	3.67	10.10	27.47	1.80	2.20	11.47	6.885
26	7.31	28.31	17.64	15.23	11.78	9.96	13.505
35	18.47	42.71	12.04	13.37	3.44	5.36	12.705
70	71.21	6.03	16.26	58.50	64.28	11.62	37.380

Tab.:9.15			Reihe K				Nest
Alter			Verteilungsmaß (eff.)				Median
14	0.15	0.12	1.79	3.10	1.19	1.47	1.330
19	7.58	11.26	30.90	12.60	2.47	15.60	11.930
26	19.04	41.65	43.36	10.28	23.01	13.44	21.025
35	90.72	60.15	15.46	16.25	18.75	5.66	17.500
70	162.76	19.15	29.59	38.20	32.00	22.71	30.795

Tab.:9.16			Reihe K				GE 10^{-2}
Alter			Verteilungsmaß (eff.)				Median
14	0.14	0.07	0.84	4.04	0.16	0.18	0.170
19	3.59	5.37	41.26	2.38	0.34	1.50	2.985
26	29.66	20.79	31.61	4.26	7.58	1.08	14.185
35	13.55	4.57	9.77	2.18	3.70	7.14	5.855
70	59.51	4.70	26.45	19.90	25.00	4.14	22.450

Tab.:9.17			Reihe E1				Luft v.
Alter	Verteilungsmaß (eff.)						Median
14	0.14	1.21	0.06	0.38	1.79	0.27	0.325
19	0.87	1.76	2.27	5.75	2.15	2.90	2.210
26	2.45	1.85	3.54	2.42	2.85	4.49	2.650
35	5.90	16.45	3.40	8.27	6.90	2.56	6.400
70	12.23	6.41	11.92	6.33	5.60	5.13	6.370

Tab.:9.18			Reihe E1				BS 10^{-2}
Alter	Verteilungsmaß (eff.)						Median
14	1.49	2.87	0.76	0.69	13.98	0.54	1.125
19	10.36	7.56	1.41	35.86	12.71	6.02	8.960
26	5.51	3.71	37.88	13.30	5.55	19.72	9.425
35	26.12	22.02	15.62	53.18	26.16	13.56	24.070
70	32.67	33.69	59.95	9.34	18.48	44.54	33.180

Tab.:9.19			Reihe E1				Nest
Alter	Verteilungsmaß (eff.)						Median
14	2.53	8.34	0.24	4.13	10.83	4.04	4.085
19	6.27	9.87	8.99	43.26	6.67	32.93	9.430
26	20.12	12.67	54.72	15.12	22.33	36.13	21.225
35	13.79	14.37	68.79	17.17	64.81	27.02	22.095
70	81.65	56.52	36.98	36.92	14.38	43.80	40.390

Tab.:9.20	Reihe E1						GE 10^{-2}
Alter	Verteilungsmaß (eff.)						Median
14	3.07	14.86	0.71	4.50	13.04	2.83	3.785
19	9.58	7.40	12.69	112.69	20.61	6.86	11.135
26	6.04	4.64	60.34	10.62	19.46	73.04	15.040
35	7.97	70.79	10.13	71.56	32.97	18.07	25.520
70	51.53	25.18	120.16	19.92	23.83	64.42	38.355

Tab.:9.21	Reihe K						Luft v.
Alter	Inkongruenzmaß						Median
14	13.20	9.50	7.40	8.20	13.30	9.10	9.300
19	8.90	4.90	11.30	5.30	4.10	8.70	7.000
26	8.20	9.00	5.80	13.40	8.20	11.00	8.600
35	3.40	9.20	9.90	8.30	10.10	4.70	8.750
70	7.10	6.60	4.80	8.60	4.50	7.70	6.850

Tab.:9.22	Reihe K						BS 10^{-2}
Alter	Inkongruenzmaß						Median
14	11.60	8.10	14.50	10.90	15.90	13.20	12.400
19	12.40	16.20	14.50	7.70	10.00	15.10	13.450
26	10.10	8.90	13.70	15.60	12.90	15.70	13.300
35	20.50	18.00	14.80	14.50	13.20	23.10	16.400
70	13.60	9.30	10.40	12.40	8.30	16.20	11.400

Tab.:9.23			Reihe K				Nest
Alter			Inkongruenzmaß				Median
14	11.60	5.00	13.20	13.80	11.90	14.60	12.550
19	17.20	19.60	29.60	10.40	7.10	15.50	16.350
26	17.60	20.30	21.40	10.60	14.60	21.30	18.950
35	30.00	20.00	17.00	33.20	11.00	29.40	24.700
70	16.70	16.50	13.30	14.70	11.80	24.10	15.600

Tab.:9.24			Reihe K				GE 10^{-2}
Alter			Inkongruenzmaß				Median
14	6.40	10.60	6.20	12.60	8.90	7.70	8.300
19	7.00	11.20	24.10	5.30	7.20	12.90	9.200
26	19.00	17.10	10.60	7.10	12.20	6.30	11.400
35	9.00	4.60	10.80	14.50	15.30	8.20	9.900
70	14.50	7.00	12.40	13.60	11.30	8.70	11.850

Tab.:9.25			Reihe E1				Luft v.
Alter			Inkongruenzmaß				Median
14	10.50	6.40	7.40	10.40	5.30	12.80	8.900
19	6.90	10.30	10.40	10.70	6.40	8.10	9.200
26	6.10	10.50	5.80	7.50	9.40	6.20	6.850
35	5.40	7.60	7.40	11.30	7.70	6.80	7.500
70	13.40	5.90	6.30	5.90	11.30	4.40	6.100

Tab.:9.26	Reihe E1						BS 10^{-2}
Alter	Inkongruenzmaß						Median
14	12.60	8.10	4.20	11.40	6.80	9.00	8.550
19	12.90	10.80	9.70	19.40	6.40	9.70	10.250
26	13.10	10.60	11.50	23.20	7.30	12.10	11.800
35	26.10	20.50	18.00	22.80	11.50	15.30	19.250
70	20.70	18.80	27.80	7.40	35.30	18.60	19.750

Tab.:9.27	Reihe E1						Nest
Alter	Inkongruenzmaß						Median
14	19.30	12.20	6.80	16.80	7.50	28.60	14.500
19	9.60	20.10	18.70	20.00	15.70	16.60	17.650
26	13.20	21.90	12.90	17.40	22.20	20.30	18.850
35	23.10	12.60	34.40	27.60	22.00	35.40	25.350
70	31.40	20.60	23.80	12.90	29.00	23.30	23.550

Tab.:9.28	Reihe E1						GE 10^{-2}
Alter	Inkongruenzmaß						Median
14	19.40	16.80	13.40	12.60	17.50	11.50	15.100
19	9.00	18.30	31.30	18.60	14.90	14.40	16.600
26	12.80	29.00	19.00	29.60	15.90	9.80	17.450
35	15.20	25.60	14.10	28.20	9.80	17.40	16.300
70	25.90	18.60	44.10	9.30	31.10	27.80	26.850

Tab.:9.29	Reihe E2a						Luft v.
Alter	Verteilungsmaß (rel.)						Median
14	0.79	0.79	1.58	0.91	1.33	0.35	0.850
35	0.72	0.38	1.32	0.58	0.67	1.43	0.695

Tab.:9.30	Reihe E2a						BS 10^{-2}
Alter	Verteilungsmaß (rel.)						Median
14	0.72	1.46	0.67	1.16	0.23	1.19	0.940
35	1.00	2.67	0.69	4.85	1.60	1.60	1.600

Tab.:9.31	Reihe E2a						Nest
Alter	Verteilungsmaß (rel.)						Median
14	0.88	1.05	9.06	4.22	1.55	3.77	2.660
35	2.63	3.79	5.29	10.26	3.12	2.37	3.455

Tab.:9.32	Reihe E2a						GE 10^{-2}
Alter	Verteilungsmaß (rel.)						Median
14	0.55	1.11	0.57	0.41	1.00	0.19	0.560
35	0.87	1.50	1.09	3.37	0.35	0.46	0.980

Tab.:9.33	Reihe E2b					Luft v.
Alter	Verteilungsmaß (rel.)					Median
14	0.40	1.02	0.83	0.26	0.27	1.96	0.615
35	0.71	0.49	0.36	1.22	0.55	0.88	0.630

Tab.:9.34	Reihe E2b					BS 10^{-2}
Alter	Verteilungsmaß (rel.)					Median
14	0.80	1.53	1.48	0.56	1.07	0.67	0.935
35	0.37	0.48	3.39	1.40	0.61	7.26	1.005

Tab.:9.35	Reihe E2b					Nest
Alter	Verteilungsmaß (rel.)					Median
14	1.09	1.78	2.57	1.07	7.11	2.67	2.175
35	2.83	7.72	7.47	6.95	2.91	6.40	6.675

Tab.:9.36	Reihe E2b					GE 10^{-2}
Alter	Verteilungsmaß (rel.)					Median
14	5.13	5.07	3.22	1.85	9.39	7.15	5.100
35	5.09	5.82	10.74	9.36	5.49	8.82	7.320

Tab.:9.37	Reihe E2a						Luft v.
Alter	Verteilungsmaß (eff.)						Median
14	0.09	0.06	0.64	0.14	1.13	0.07	0.115
35	6.34	1.48	11.98	5.51	2.77	11.12	5.925

Tab.:9.38	Reihe E2a						Bs 10^{-2}
Alter	Verteilungmaß (eff.)						Median
14	0.09	0.15	0.31	0.24	0.21	0.19	0.200
35	8.08	7.97	5.93	36.89	7.70	14.20	8.025

Tab.:9.39	Reihe E2a						Nest
Alter	Verteilungsmaß (eff.)						Median
14	0.06	0.13	3.73	0.98	1.34	0.91	0.945
35	25.30	15.79	62.04	87.46	11.46	37.03	31.165

Tab.:9.40	Reihe E2a						GE 10^{-2}
Alter	Verteilungsmaß (eff.)						Median
14	0.07	0.18	0.22	0.06	1.18	0.02	0.125
35	7.20	5.06	10.50	26.79	1.58	4.82	6.130

Tab.:9.41	Reihe E2b						Luft v.
Alter	Verteilungsmaß (eff.)						Median
14	0.04	0.11	0.42	0.03	0.07	0.27	0.090
35	3.75	1.78	3.86	10.62	2.11	4.79	3.805

Tab.:9.42	Reihe E2b						BS 10^{-2}
Alter	Verteilungsmaß (eff.)						Median
14	0.10	0.23	0.69	0.07	0.29	0.02	0.165
35	1.49	1.26	34.64	10.63	1.57	37.93	6.100

Tab.:9.43	Reihe E2b						Nest
Alter	Verteilungsmaß (eff.)						Median
14	0.13	0.47	1.71	0.13	2.10	0.24	0.355
35	13.83	36.27	66.33	49.49	9.47	33.59	34.930

Tab.:9.44	Reihe E2b						GE 10^{-2}
Alter	Verteilungsmaß (eff.)						Median
14	0.53	0.62	1.74	0.23	2.53	0.62	0.620
35	34.20	15.63	130.50	71.10	15.27	49.22	41.710

Tab.:9.45	Reihe E2a						Luft v.
Alter	Inkongruenzmaß						Median
14	12.50	11.00	6.10	8.70	7.40	8.10	8.400
35	7.90	6.30	12.60	8.10	6.70	12.00	8.000

Tab.:9.46	Reihe E2a						BS 10^{-2}
Alter	Inkongruenzmaß						Median
14	10.30	9.50	5.80	7.50	6.00	5.60	6.750
35	7.70	14.60	8.70	15.20	16.10	10.00	12.300

Tab.:9.47	Reihe E2a						Nest
Alter	Inkongruenzmaß						Median
14	11.30	10.00	14.30	15.00	12.70	7.40	12.000
35	14.30	17.20	20.30	25.20	22.70	21.30	20.800

Tab.:9.48	Reihe E2a						GE 10^{-2}
Alter	Inkongruenzmaß						Median
14	8.90	13.90	8.10	9.10	7.90	5.50	8.500
35	7.60	10.20	7.50	11.50	7.20	7.60	7.600

Tab.:9.49	Reihe E2b						Luft v.
Alter	Inkongruenzmaß						Median
14	8.90	9.90	7.50	4.30	4.00	14.70	8.200
35	10.10	8.20	5.30	12.80	8.90	6.60	8.550

Tab.:9.50	Reihe E2b						BS 10^{-2}
Alter	Inkongruenzmaß						Median
14	12.40	9.80	10.00	9.30	11.40	10.70	10.350
35	6.40	7.30	11.60	7.30	9.90	25.50	8.600

Tab.:9.51	Reihe E2b						Nest
Alter	Inkongruenzmaß						Median
14	5.10	10.00	12.00	8.80	10.50	12.10	10.250
35	20.60	22.30	24.10	22.60	20.00	20.20	21.450

Tab.:9.52	Reihe E2b						GE 10^{-2}
Alter	Inkongruenzmaß						Median
14	12.90	11.50	18.20	9.60	20.70	27.30	15.550
35	26.80	17.10	29.10	31.40	23.60	26.60	26.700

Lebenslauf

Martin, Wolfgang Eckert, geboren am 9. 11. 1953 in Gottwollshausen Krs. Schwäbisch Hall, als zweiter Sohn der Eheleute Wolfgang Eckert, Offizier und Hedy, geb. Schauperl, Hausfrau.

1957 Umzug nach Mittenwald, Oberbayern.

1959 Umzug nach München; 1960 Einschulung in die Volksschule.

1965 Überwechseln auf die Rupprecht-Oberrealschule in München.

1967 Umzug nach Bonn: Umschulung auf das math.-nat. Gymnasium Tannenbusch in Bonn.

1974 Abitur, anschließend Wehrdienst als Zeitsoldat.

1975 Heirat mit der Rechtspflegerin Dagmar Kuhn.

1976 Entlassung aus der Bundeswehr als Leutnant d.Res., dann Tätigkeit als Krankenpfleger.

1977 Aufnahme des Biologie-Studiums (Diplom) an der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität in Bonn.

1979 Vordiplom.

1983 Hauptdiplom; Beginn der Dissertation.